

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
Setor de Ciências Biológicas
Programa de Pós-Graduação em Zoologia

**Estratégias Reprodutivas de *Didemnum rodriguesi*
(Aplousobranchia, Didemnidae)**

Nicole Flues Ritzmann

Dissertação apresentada ao Programa de
Pós - Graduação em Ciências Biológicas-
Zoologia, Setor de Ciências Biológicas da
Universidade Federal do Paraná, como
requisito parcial para a obtenção do
Título de Mestre em Ciências Biológicas-
Zoologia.

Orientadora: Dra. Rosana Moreira da
Rocha

Curitiba

2005

Sumário

Agradecimentos.....	I
Lista de tabelas.....	II
Lista de figuras.....	III
Resumo.....	V
Abstract.....	VII
Capítulo I.....	1
1. Introdução.....	1
2. Material e métodos.....	6
2.1 Caracterização da Área de Estudo.....	6
2.2 Coleta de dados – visão geral.....	8
2.3 Acompanhamento das fotografias.....	9
2.4 Descrição das coletas.....	13
2.5 Análise dos dados.....	13
3. Resultados.....	14
3.1 Resumo dos resultados obtidos.....	16
3.2 Reprodução sexuada.....	17
3.3 Reprodução assexuada.....	20
3.3 Outros processos.....	24
4. Discussão.....	26

5. Referências bibliográficas.....	36
Capítulo II.....	41
1. Introdução.....	41
2. Material e Métodos.....	43
2.1 Descrição do local com redução de luminosidade (escuro)..	44
2.2 Visão geral do experimento.....	45
2.3 Análise dos dados.....	46
3. Resultados.....	46
3.1 Resumo dos resultados.....	46
3.2 Reprodução sexuada.....	47
3.3 Reprodução assexuada.....	50
3.4 Outros processos.....	53
4. Discussão.....	55
5. Referências bibliográficas.....	59

I

Agradecimentos

Foram muitas as pessoas que contribuíram de forma direta ou indireta na elaboração da pesquisa, análises dos resultados e elaboração da dissertação.

Agradeço primeiramente à minha orientadora Dra. Rosana Moreira da Rocha pelo incentivo, paciência e colaboração para esta dissertação.

Aos meus pais, por todo apoio em todas as minhas escolhas.

À Capes, pela bolsa concedida durante todo o período do curso.

Às operadoras de mergulho Seadivers e Parcel Dive Center pelo subsídio com as incontáveis saídas de mergulho e a todo seu staff pelo auxílio no barco, dentro e fora d'água para a realização desta pesquisa.

Às pessoas que foram mergulhar comigo para me ajudar, mesmo nos dias ruins com águas frias e ondas no percurso.

Ao professor Dr. James Roper na ajuda com as análises estatísticas e o Msc. Juliano Anderson Pacheco da UFSC no auxílio com o programa Statistica 6.0 e também com alguns aspectos da estatística.

E também a todos os meus amigos e amado namorado Márcio Abatipietro pelo incentivo e inspiração na elaboração deste trabalho.

II

Lista de Tabelas

Capítulo I:

Tabela 1. Resumo dos tipos de coleta e os dados obtidos.....	9
Tabela 2. Representação da tabela utilizada para o teste de independência com as taxas de ocupação do substrato.....	12
Tabela 3. Resumo dos resultados das comparações entre verão e inverno.....	16
Tabela 4. Resumo dos resultados das correlações.....	16

Capítulo II:

Tabela 1. Resumo das comparações entre claro e escuro.....	46
Tabela 2. Análise de variância dos efeitos da luminosidade e estação do ano sobre o número de recrutamentos.....	49
Tabela 3. Número de eventos de crescimento positivo e negativo das colônias.....	52
Tabela 4. Tamanho das colônias em diferentes situações ambientais.....	52
Tabela 5. Mortalidade das colônias em diferentes situações ambientais.....	54

III

Lista de Figuras

Capítulo I:

Figura 1. Localização da área de estudo.....	7
Figura 2. Fotografia de um agregado com uma lente macro.....	10
Figura 3. Fotografia de um agregado no dia 14/2/03.....	15
Figura 4. Fotografia do mesmo agregado no dia 3/3/03.....	15
Figura 5. Variação do número de ovos de <i>D. rodriguesi</i>	17
Figura 6. Variação do número de larvas.....	18
Figura 7. Comparação número de recrutamentos entre as estações do ano.....	18
Figura 8. Número de ovos em relação à área das colônias.....	19
Figura 9. Número de ovos/ zoóide em relação à área das colônias.....	19
Figura 10. Área das colônias de <i>D. rodriguesi</i> por estação do ano.....	20
Figura 11. Taxa de crescimento positivo de <i>D. rodriguesi</i> no inverno e verão.....	21
Figura 12. Taxa de crescimento negativo de <i>D. rodriguesi</i> no inverno e verão.....	22
Figura 13. Taxa de crescimento positivo em relação ao tamanho inicial da colônia...22	
Figura 14. Número de zoóides/mm ² (densidade) em relação à área da colônia.....	23
Figura 15. Número de divisões por estação do ano.....	24
Figura 16. Número de fusões por estação do ano.....	24
Figura 17. Número de fusões comparado ao de divisões no inverno e verão.....	25
Figura 18. Mortalidade das colônias por estação do ano.....	26

Capítulo II:

Figura 1. Esquema do local escuro.....	44
Figura 2. Fotografia de um agregado no escuro com a lente macro.....	45
Figura 3. Número de ovos incubados nos tratamentos.....	48
Figura 4. Número de larvas incubadas por colônia.....	48
Figura 5. Número de recrutamentos por agregado no inverno.....	49
Figura 6. Número de recrutamentos por agregado no verão.....	50
Figura 7. Logaritmo das taxas de crescimento positivo das colônias.....	51
Figura 8. Logaritmo das taxa de crescimento negativo das colônias.....	51
Figura 9. Tamanho das colônias em mm ² nos tratamentos.....	53
Figura 10. Taxa de mortalidade por tratamento.....	54

Resumo

As estratégias reprodutivas de um organismo têm fundamental importância na dinâmica de sua população, na distribuição geográfica e na continuidade da espécie. A alocação de recursos para o crescimento, manutenção e reprodução tem que ser otimizada ao longo da vida do animal para que este tenha sucesso reprodutivo e possa sobreviver.

O objetivo deste trabalho foi estudar as estratégias reprodutivas de *D. rodriguezi* em termos do investimento em reprodução sexuada e assexuada em duas estações do ano: verão e inverno. Este trabalho também procurou verificar a ocorrência de plasticidade em diferentes aspectos reprodutivos em duas situações ambientais distintas (grande luminosidade e baixa luminosidade). A não-existência de plasticidade entre os locais indica uma atuação genética determinando tais caracteres.

A pesquisa foi realizada na Ilha do Arvoredo, SC, localizada no sul do Brasil. Os dados sobre os aspectos reprodutivos de *D. rodriguezi* foram obtidos por fotografias de locais marcados no infralitoral, a aproximadamente 7 m de profundidade, e coletas de colônias. As fotos foram feitas na primavera de 2003, verão e inverno de 2004. Tanto no verão como inverno, sucessivas fotografias a intervalos de 7 a 10 dias avaliaram a fragmentação e fusão das colônias, tamanho, taxas de crescimento, mortes e recrutamentos. Coletas mensais de julho 2003 a maio 2004 forneceram informações sobre o número de ovos e larvas incubados, tamanho da colônia e a densidade dos zoóides.

A comparação da reprodução sexuada em relação à assexuada revelou que existe uma sazonalidade no investimento em reprodução sexuada, que ocorre nos meses de maior temperatura da água. Nos meses mais frios, ocorre um investimento em crescimento, verificado por taxas de crescimento e tamanho das colônias maior. O outro tipo de reprodução assexuada, a fragmentação das colônias, não variou entre o verão e inverno, revelando-se um fenômeno constante.

O número de fusões também não variou entre o verão e inverno. O número de fusões é significativamente maior que o número de divisões e indica que a espécie investe mais em aumento de tamanho. Há uma correlação positiva entre tamanho da colônia e número de ovos/larvas encontrados, então neste aspecto, a fusão potencializa a

VI

reprodução sexuada. O número de mortes também foi constante, ocorrendo tanto no inverno como no verão.

O número de ovos, recrutamentos e mortes são maiores no claro. O número de larvas não foi diferente entre os tratamentos, mas as larvas podem ter sido liberadas justamente antes das coletas. As taxas de crescimento e tamanho das colônias foram maiores no escuro. O número de divisões e fusões tanto no claro como escuro ocorrem em igual escala. Estes resultados indicam que alguns aspectos reprodutivos de *D. rodriguesi* apresentam variação fenotípica quanto à intensidade luminosa, já que os dois locais comparados são bastante próximos (aproximadamente 15 m de distância) e possuem outras condições ambientais semelhantes.

VII

Abstract

Reproductive strategies are very important for understanding population dynamics, geographic distribution and survival. Understanding how resources are allocated for growth, maintenance and reproduction is also important, since organisms should optimize their allocation efforts to maximize fitness.

This study examines reproductive strategies of *D. rodriguesi* at Arvoredo Island, southern Brazil. Specifically, we compare investment in sexual and asexual reproduction between winter and summer. Phenotypic plasticity was compared between two locations with lighted and shaded treatments. We predicted that variability in investment in the two types of reproduction shows that reproductive traits are not genetically controlled, but rather are environmentally adaptable. Estimates of fragmentation, fusion, colony size, growth rates, mortality and recruitment were based on digital photographs. Photographs were taken in spring 2003 and summer and winter 2004. In winter and summer samples, photographs were taken at intervals of 7 to 10 days to accompany relatively rapid changes in the colonies. Monthly samples were also collected from July 2003 until May 2004 to estimate the number of eggs and larvae, colony size and zooid density.

Comparison between sexual and asexual reproduction showed seasonal changes in sexual and asexual reproduction. Sexual reproduction was most important during warmer water temperatures (from November to May, the southern summer). Asexual reproduction, associated with greater growth rates and larger colony sizes, was more important during the winter. Colony fragmentation, also a type of asexual reproduction, was constant over seasons and treatments. Colony fusions were also constant over seasons. Fusion occurred more often than fragmentation, and since colony size and the “per-capita” number of eggs or larvae are correlated, larger size is favored to increase reproductive output. Mortality is constant over seasons.

In the experimental manipulation of light, mortality, recruitment and number of brooded eggs were greater in the natural light treatment compared to the shaded treatment. The number of larvae was constant over light treatments. Growth rates and

VIII

colony size were greater in the shaded treatments, while fusions and divisions were similar among treatments.

Thus, we show that the reproductive strategies of *D. rodriguezi* vary seasonally, but also include phenotypic plasticity with respect to light conditions.

Capítulo I

Reprodução sexuada vs. assexuada em *Didemnum rodriguesi* (Aplousobranchia, Didemnidae)

1. Introdução:

As estratégias reprodutivas de um organismo têm fundamental importância na dinâmica de população, distribuição geográfica e continuidade da espécie.

Muitos processos estão envolvidos na reprodução, que leva à produção de descendentes. Apesar de diversos processos estarem envolvidos na oogênese (produção de gametas femininos) e espermatogênese (gametas masculinos), os padrões básicos da gametogênese são similares entre os invertebrados (Llodra, 2002). A produção de gametas, especialmente os ovos, é energeticamente custosa e extremamente sensível à pressão seletiva. Um organismo pode ingerir e assimilar uma quantidade limitada de energia do ambiente. A alocação de recursos para o crescimento e reprodução tem que ser otimizada ao longo da vida do animal para que este tenha um sucesso reprodutivo e possa sobreviver. As diferentes formas pelas quais a energia é alocada para o crescimento e reprodução para maximizar a aptidão, forma a base das diferentes estratégias de ciclos de vida que evoluíram nos invertebrados marinhos (Llodra, 2002).

Os organismos modulares são caracterizados por um crescimento indeterminado e uma grande plasticidade morfológica (Kim & Lasker, 1998) e, como resultado, eles não possuem uma forma terminal fixa e pré-determinada, e podem ajustar sua morfologia ao longo de sua vida. O tamanho, número e arranjo dos módulos varia entre colônias e também ao longo do ciclo de vida individual (Pineda-Krch & Poore, 2004).

O organismo a ser estudado neste trabalho é a ascídia colonial da espécie *Didemnum rodriguesi*, pertencente ao Subfilo Urochordata ou Tunicata, Classe Ascidiacea e ordem dos Aplousobranchia. Esta classe de animais é exclusivamente marinha e bentônica e pode ter formas solitárias ou coloniais; a ordem é formada pelas ascídias coloniais com o corpo subdividido em tórax e abdome e, às vezes pós-abdome e uma faringe sem vasos ou pregas (Rodrigues *et al.*, 1998). As ascídias coloniais da

família Didemnidae caracterizam-se por apresentar colônias delgadas, incrustantes, constituídas por pequenos zoóides que apresentam faringe com 3 a 4 fileiras de fendas branquiais e túnica com espículas calcárias em forma estrelada (Rodrigues *et al.*, 1998). *Didemnum rodriguesi* Rocha & Monniot, 1993 é uma colônia alaranjada ou avermelhada, com espículas em abundância formando um desenho reticulado muito fino, visível apenas sob magnificação (Rodrigues *et al.*, 1998). Cada colônia é composta de algumas centenas de módulos idênticos (zoóides), que estão dentro de uma matriz orgânica e gelatinosa, a túnica. Neste organismo, as cloacas são lisas e margeadas por um anel branco, o que facilita sua identificação no campo. Não há algas simbiontes. No Brasil a espécie é conhecida para o Paraná, Santa Catarina (observação pessoal), São Paulo (Rocha & Monniot 1993), Cabo Frio e Arraial do Cabo, RJ e Ilha do Frade – Baía de Todos os Santos, BA. (Lotufo 2002)

As ascídias coloniais podem reproduzir-se de duas maneiras: sexuada e assexuadamente. No primeiro modo, uma nova colônia origina-se a partir de uma larva planctônica procedente da fecundação interna de gametas femininos, cujo desenvolvimento ocorre dentro da própria colônia. Por um curto período, esta larva nada em ambiente natural e, logo após a liberação, apresenta uma natação vertical de 1 a 5 m acima da colônia e posteriormente procura um local sombreado para assentar-se (Duyll *et al.* 1981) devido a uma fototaxia negativa. Não é relatado se larvas do gênero *Didemnum* têm a capacidade de selecionar locais mais adequados para fixar-se, no entanto as larvas de outros didemnídeos como *Diplosoma similis* (Stoner, 1994) são capazes de perceber informações sobre o local de assentamento a uma certa distância do substrato, ou seja, usando um modo de identificação de locais adequados que não utiliza o contato. As larvas de *Clavelina moluccensis* e *Podoclavella cylindrica* parecem detectar substâncias liberadas na água por outras larvas já assentadas e evitam o recrutamento nestas localidades (Davis & Campbell, 1996). Este comportamento indica um padrão de dispersão baseado em interações competitivas intraespecíficas para a densidade de recrutas não sobrepor o limite disponível. Porém, larvas oriundas de uma mesma colônia têm um padrão de recrutamento em que os recrutas se aproximam mais. Este fenômeno também foi visto para o briozoário *Bugula neritina* e denominado por Keough (1984) de reconhecimento entre parentes. Além da capacidade de seleção, as taxas de recrutamento

afetam profundamente a dinâmica e estrutura de comunidades marinhas bentônicas (Underwood & Fairweather, 1991).

A larva de *Didemnum rodriguezi*, após o assentamento, perde a cauda e metamorfoseia-se em um pequeno zoóide que sofre sucessivas divisões assexuais e forma uma nova colônia. Este processo caracteriza um tipo de reprodução assexuada e o resultado é o crescimento da colônia. Na literatura tais divisões assexuais são denominadas brotamento (*budding*) e, desde os trabalhos pioneiros de Kowalevsky (1874) e Caullery (1895), citados por Nakauchi (1982), constatou-se que existe uma diversidade considerável no modo de formação dos novos zoóides (*buds*) e em seu desenvolvimento (Nakauchi, 1982). Quanto aos brotamentos, há dois tipos caracterizados em relação ao significado biológico desempenhado: a) propagativo: que funciona no crescimento da colônia e b) de sobrevivência: em condições ambientais desfavoráveis.

O primeiro tipo supostamente ocorre em todas as ascídias coloniais, apesar de que para algumas espécies como *Clavelina lepadiformis* e *Diazona violacea* apenas a forma de sobrevivência é conhecida (Nakauchi, 1982). Ainda quanto ao primeiro tipo de brotamento, pode ocorrer na fase adulta em uma variedade de modos, ou ainda durante a formação larval. Os didemnódeos são conhecidos pelo brotamento pilórico, no qual dois brotos (torácico e abdominal) são formados em um único zoóide para originar o novo zoóide.

O brotamento de sobrevivência é encontrado em algumas famílias de ascídias e ocorre de forma bastante variável, porém no trabalho de Nakauchi (1982) o brotamento de sobrevivência não é relatado para os didemnódeos.

Uma outra forma de reprodução assexuada pode ocorrer quando uma colônia adulta divide-se e origina colônias filhas geneticamente iguais por meio de uma fragmentação da colônia (Rinkevich *et al.*, 1995). A fragmentação de uma colônia, como estratégia de reprodução assexuada ou crescimento vegetativo, possibilita uma rápida propagação de um genótipo (Ryland *et al.* 1984, Oka & Usui, 1944).

A propagação assexuada via fragmentação vegetativa ocorre quando partes vivas de organismos sobrevivem e continuam a crescer. No ambiente marinho, este processo pode ser uma parte do ciclo de vida de um animal (endógeno) ou resultante de um processo exógeno e ocorre como resultado de uma ação de outros animais, como

predação e organismos perfurantes (que podem agir sobre a colônia quebrando-a) e/ou perturbações físicas, ou ainda a combinação de ambos os processos endógenos e exógenos (Waltersa *et al.*, 2002).

Este processo de propagação já foi observado em várias espécies da família Didemnidae, como por exemplo, *Diplosoma listerianum*, *Didemnum gelatinosum* e *Trididemnum tenerum* e em pelo menos mais 6 espécies (Carlisle, 1961). O processo de fragmentação é geralmente acompanhado de movimentos lentos sobre o substrato, que envolvem a formação progressiva de novas fixações e conexões da túnica com o substrato, e dissolução de outras junções mais antigas. Como resultado, ocorre um deslocamento sobre o substrato que resulta em movimentos em sentidos contrários que culminam com a formação de novas colônias por divisão das antigas; por meio de deslocamento, colônias separadas também podem unir-se ou ainda reorganizar-se no substrato. Esta capacidade autônoma de deslocamento sobre o substrato, nos adultos, foi observada para outras espécies de ascídias coloniais e solitárias, tais como *Distaplia magnilarva*, *Botryllus schlosseri*, *Ciona intestinalis* e *Cystodytes dellechiaiei* (Carlisle, 1961).

Carlisle (1961) descreve que os zoóides de *Trididemnum tenerum* migram pela túnica, em uma atividade coordenada entre os mesmos, e que, cavidades atriais inteiras movem-se através da túnica e as aberturas cloacais movem-se umas até as outras até unirem-se. Este mesmo autor relata que a fusão de *Trididemnum tenerum* envolve a união dos vasos vasculares da túnica e que *Diplosoma* sp. desloca-se a partir de determinados movimentos das ampolas vasculares, que puxam os zoóides e a túnica presa a eles. Cowan (1981) observou, em um período de 12 dias, movimentos de colônias de *Didemnum molle* na ordem de alguns centímetros e constatou que o número de colônias aumentou de 16 para 35 após este período.

Outros organismos que, apesar de sésseis, também se movimentam pelo substrato e efetuam uma grande parte de sua reprodução por fragmentação são as esponjas. Devido à simplicidade de seus tecidos e da colônia, estes animais não precisam de larvas para colonizar distâncias mais afastadas. O fenômeno da fragmentação divide um indivíduo em duas ou mais unidades fisiológicas independentes do mesmo genótipo, chamadas propágulos, e capazes de dispersar para áreas mais distantes. Estes são bastante eficientes

nesta função e são os responsáveis por uma rápida colonização do substrato. Wulff (1991) menciona que apenas 2,2% das três espécies de esponjas pesquisadas por ele resultam de larvas produzidas sexualmente e destaca a importância da reprodução assexuada para tais espécies, feita pela produção contínua de propágulos, sendo responsável pela quase totalidade da propagação das mesmas.

A reprodução assexuada também tem grande valor adaptativo para outros animais bentônicos, como alguns zoantídeos (Karlson, 1988), gorgonáceos (Lasker, 1990), briozoários (Hughes *et al.*, 2004; Cocito *et al.*, 2001) e algas (Waltersa, 2002) e possui um papel fundamental na recolonização após algum estresse ambiental que cause altas mortalidades nos organismos. No intervalo entre tais desastres, os genótipos que melhor se adaptaram ao ambiente, investem parte de sua energia em reprodução assexuada para aumentar o seu número. A competição por espaço torna-se, num primeiro momento, menos acentuada e, provavelmente os animais mais dinâmicos e velozes ocuparão o substrato mais rapidamente (Wulff, 1991).

Os organismos modulares têm modos complicados de sobrevivência, reprodução sexuada e crescimento (Linacre & Keough, 2003). As colônias podem crescer em tamanho pela formação assexuada de novos zoóides ou ainda por fusão, criando um número menor de colônias, porém de maior tamanho.

Algumas perturbações físicas e biológicas podem levar organismos modulares grandes a quebrarem-se em fragmentos, como acontece com alguns corais (Smithl & Hughes, 1998), mas muitos destes podem sobreviver, continuar a crescer e reproduzirem-se. Tais perturbações podem resultar em morte parcial das colônias quando alguns módulos são removidos. Estes fatos indicam que o destino demográfico dos indivíduos não é necessariamente uma função da idade, mas sim uma função de seu tamanho.

É curioso o fato de animais filogeneticamente tão distantes entre si possuírem as mesmas estratégias de colonização e recolonização do substrato, como por exemplo a utilização da fragmentação de colônias. Sua recorrência em diferentes filos indica que esta estratégia deve possuir um valor adaptativo grande e as espécies que o fazem têm a oportunidade de permanecer no ambiente, sobrevivendo, inclusive, a várias situações inóspitas de estresses ambientais. Para estes animais, a manutenção de ambos os tipos de reprodução, sexuada e assexuada, parece ter sido fundamental à sua sobrevivência e cada

um dos tipos tem sua importância maior numa determinada fase do ciclo de vida destas espécies.

Neste capítulo serão apresentadas as estratégias reprodutivas de *D. rodriguesi* em termos do investimento em reprodução sexuada e assexuada em duas estações do ano: verão e inverno. O objetivo deste capítulo é quantificar as duas formas de reprodução em cada estação do ano, em termos do número de ovos, número de larvas, recrutamento (reprodução sexuada), tamanho, taxa de crescimento e número de divisões das colônias, densidade de zoóides (reprodução assexuada), compará-las e identificar as estratégias reprodutivas adotadas por este animal. Pretende-se também verificar se as estratégias utilizadas pela espécie mudam ao longo do tempo.

2. Material e Métodos:

2.1 Caracterização da Área de Estudo

Este trabalho foi realizado no litoral de Santa Catarina, mais precisamente na Ilha do Arvoredo, que faz parte da Reserva Biológica Marinha do Arvoredo. Esta reserva é formada pelas Ilhas do Arvoredo, Galé, Deserta, Calhau de São Pedro e toda a faixa marinha adjacente, abrangendo uma área total de 17.600 ha e distante aproximadamente 11 km ao Norte da Ilha de Santa Catarina (Fig. 1). A porção Sul da Reserva situa-se defronte à Baía de Tijucas, estendendo-se em direção Norte até as imediações da praia de Mariscal, no município de Bombinhas. Sua zona de influência é formada pelos municípios de Bombinhas, Tijucas, Governador Celso Ramos e Florianópolis (Chlodinski, 2002).

A Ilha do Arvoredo (27°11'S - 27°16'S e 48°19'W - 48°24'W) possui uma cobertura de Mata Atlântica primária, com pequenos cursos d'água, alguns sazonais, dependentes do regime de chuvas na região.

Noventa e três por cento da área da reserva é constituída por fundos arenosos intermediários e profundos (Reuss-Strenzel, 1997) e as ilhas no entorno da reserva funcionam como armadilha de sedimento vindos dos rios Tijucas e Itajaí-Açu (Abreu 1998).

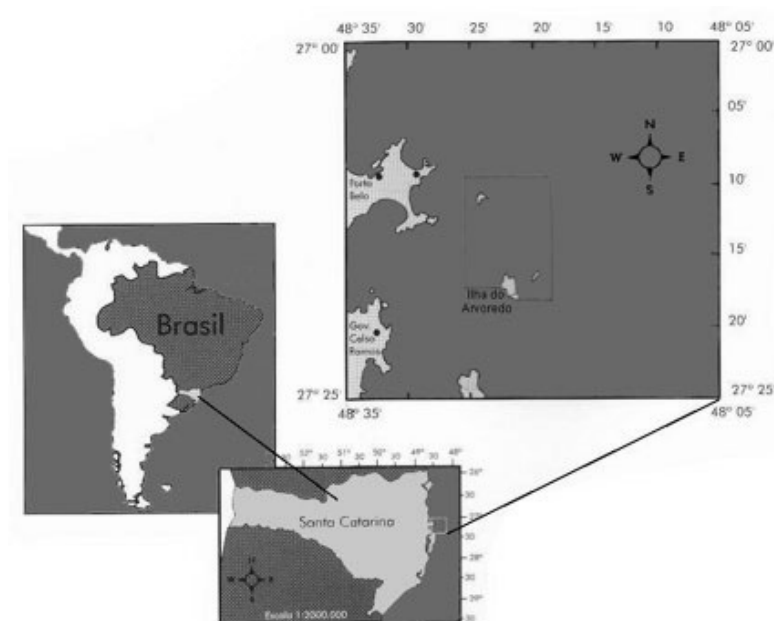


Fig.1: Localização da área de estudo.

A área da Ilha do Arvoredo apresenta uma estrutura oceanográfica complexa, já tendo sido identificados, inclusive, eventos de ressurgência da Água Central do Atlântico Sul (Carvalho & Schettini, 1996). A distribuição de massas de água no litoral Centro Norte Catarinense (do rio Itapocu à Baía de Tijucas) apresenta dois padrões: situação de primavera-verão e outono-inverno. Na primeira, a coluna d'água apresenta-se em duas camadas com termoclina bastante acentuada e os ventos do quadrante Norte provocam a ressurgência costeira da Água Central do Atlântico Sul. Com a incidência de ventos do quadrante Sul há a subsidência de águas junto à costa com afundamento da termoclina. Já na situação de outono-inverno, a coluna d'água apresenta-se homogênea devido ao aumento da magnitude e manutenção dos ventos provenientes do quadrantes Sul, assim como pela advecção de águas de origem subantártica influenciada pelo aporte de águas continentais vindas do rio da Prata e lagoa dos Patos (Carvalho *et al.* 1998).

Esta área também apresenta alta biodiversidade por estar localizada em uma faixa de transição entre os climas tropical e subtropical, no encontro de duas correntes

oceânicas: a Corrente Oceânica do Brasil (águas quentes) e a Corrente das Malvinas (águas frias).

O local do experimento foi o Saco do Vital, na porção sul da Ilha do Arvoredo, fora dos limites da reserva, onde se localizam uma guarnição da Marinha do Brasil e um farol. Este local foi escolhido por apresentar grandes rochas graníticas submersas, de fácil visualização (importante nos dias de pouca visibilidade) e que devido às suas dimensões, permitiram que o experimento fosse realizado em uma única localidade. A rocha escolhida para o experimento fica com sua base em uma profundidade de aproximadamente 7 m. As colônias a serem estudadas localizam-se na faixa dos 6 m, ao redor da rocha.

2.2 Coleta de dados – visão geral

Dois tipos de coletas de dados foram utilizadas para a quantificação da reprodução sexuada e assexuada da espécie no verão e inverno. O primeiro método foi a seqüência de fotografias de locais marcados no infralitoral com colônias de *D. rodriguesi* e acompanhamento da dinâmica das mesmas ao longo do tempo. Este método obteve dados sobre a reprodução sexuada (recrutamentos); assexuada (eventos de divisão, tamanho das colônias em mm², taxas de crescimento e taxas de ocupação do substrato) e também sobre o número de mortes e eventos de fusão da espécie.

A outra forma de obtenção de dados foi a coleta mensal de colônias e posterior análise em laboratório para conseguir dados sobre o número de ovos e larvas incubados, comprimento do maior diâmetro, área da colônia e densidade de zoóides.

Estes dois métodos providenciaram todos os subsídios necessários para a quantificação da reprodução sexuada e assexuada e também dados não relacionados à reprodução, mas também de grande valor para a compreensão da dinâmica da população estudada e suas estratégias reprodutivas: número de fusões, mortes, tamanho e número total de colônias no agregado. A tabela abaixo (Tab. 1) sumariza os dois métodos de coleta e reproduz quais dados foram utilizados para a quantificação da reprodução sexuada, assexuada e outros aspectos ecológicos.

Tab. 1: Tipos de coleta e os dados obtidos por cada uma delas.

	Fotografias	Coletas de colônias
Reprodução sexuada	<ul style="list-style-type: none"> • recrutamentos 	<ul style="list-style-type: none"> • n° ovos • n° larvas
Reprodução assexuada	<ul style="list-style-type: none"> • n° divisões • tx. crescimento 	<ul style="list-style-type: none"> • densidade de zoóides • área da colônia
Outros dados	<ul style="list-style-type: none"> • mortes • n° fusões • tx. ocupação 	

2.3 Acompanhamento das fotografias

Dez pequenas áreas de 12 x 18 cm que correspondem ao alcance da fotografia da câmara subaquática Sea & Sea Motor Marine 35 MX-10, com uma lente macro, foram demarcadas com a cola subaquática *Tubolit 301*. As áreas marcadas foram denominadas de agregado e cada um possuiu um número variado de colônias (Fig. 2).

Após feitas as marcações, a próxima etapa foi fotografar os agregados. Estas fotos foram feitas de forma intensiva em duas etapas: verão e inverno. As datas da realização das fotografias no verão foram: 29/01/04, 9/02/04, 14/02/04, 3/03/04, 13/03/04. No inverno, devido a frentes frias consecutivas, somente 3 saídas foram viáveis: 11/06/04, 19/06/04, 26/06/04.

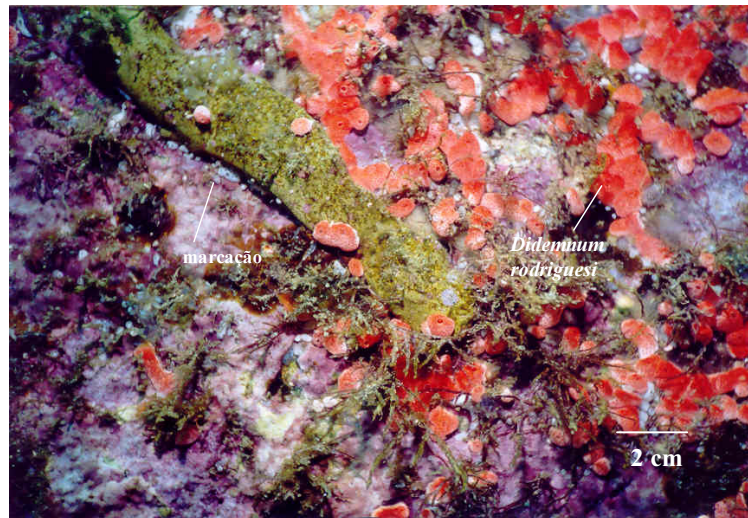


Fig. 2: Fotografia de um agregado com uma lente macro.

Conforme já foi mencionado anteriormente, as fotografias forneceram dados referentes a:

- a-** eventos de fusão e número de colônias envolvidas neste processo
- b-** eventos de divisão e número de colônias formadas
- c-** número total de mortes e recrutamentos
- d-** tamanho das colônias em mm^2 ; taxas de crescimento e taxas de ocupação do substrato

Para determinar estas variáveis, em cada agregado (fotografia) aproximadamente 10 colônias foram observadas (há fotografias com um número inferior a 10 colônias, no entanto a grande maioria possui um número bem mais elevado de colônias). Cada evento de fusão e/ou divisão e o número de colônias envolvidas no processo foram contados, para cada data. As fusões e divisões são de fácil visualização porque a forma geral da colônia não muda muito no início, ou seja o formato continua o mesmo, mas as colônias aparecem divididas ou unidas na foto que se sucede. Por isso, o intervalo entre as fotografias nunca foi maior do que 18 dias e estes eventos sempre puderam ser acompanhados. O número de fusões e divisões foram ajustados dividindo-se o número total de eventos pelo número de colônias observadas e pelo número de dias transcorridos entre as observações. Ou seja, de acordo com a equação:

$\text{n}^\circ \text{ de fusões (ou divisões) ajustado} = \text{n}^\circ \text{ de eventos} \cdot (\text{n}^\circ \text{ de colônias observadas})^{-1} \cdot (\text{n}^\circ \text{ de dias entre as observações})^{-1}$

O número de recrutamentos e mortes foram contados para todas as fotografias em todas as datas. Cada colônia nova que surgiu em um local onde anteriormente não havia colônias, foi contada como um novo recrutamento. É possível distinguir recrutamentos de divisões porque neste último as colônias ficam próximas umas das outras e com o mesmo formato geral da colônia antes da divisão e os recrutamentos aparecem onde não há colônias. As mortes foram contadas sempre que uma colônia “desaparecia” da foto. Colônias que recrutaram e logo após morreram, foram contadas como um recrutamento e uma morte.

A partir dos dados sobre o número de mortes calculou-se a taxa de mortalidade. Como mortalidade é dependente do número de colônias observadas (densidade), a taxa de mortalidade foi calculada fazendo a divisão do número de mortes total pelo número total de colônias da foto e o intervalo de dias entre observações subseqüentes, explicitado na fórmula abaixo:

$\text{taxa de mortalidade} = \text{n}^\circ \text{ de mortes na fotografia} \cdot (\text{n}^\circ \text{ de colônias total da foto})^{-1} \cdot (\text{n}^\circ \text{ de dias entre as fotografias})^{-1}$

O número total de recrutamentos também foi transformado em uma taxa, calculada pela divisão do número total de recrutamentos em todas as fotografias pelo número de dias do período, ou seja:

$\text{taxa de recrutamento} = \text{n}^\circ \text{ de recrutamentos total nas fotografias} \cdot (\text{n}^\circ \text{ de dias entre as fotografias})^{-1}$

As colônias de *D. rodriguesi* não variam muito em espessura e o crescimento pode ser definido como a mudança de tamanho da superfície da colônia. A área de cada colônia foi medida pelo software Sigma Scan Pro 2.0 e as taxas de crescimento calculadas de acordo com a fórmula abaixo:

$\text{taxa de crescimento} = (\text{área}_{\text{final}} - \text{área}_{\text{inicial}}) \cdot (\text{n}^\circ \text{ de dias entre as fotografias})^{-1}$

A taxa de ocupação do espaço foi calculada para saber se os eventos de divisão e fusão implicam em um aumento ou diminuição do espaço ocupado pela colônia. Este cálculo foi realizado para uma subamostra sorteada de colônias que sofreram fusão ou divisão.

O cálculo foi a soma da área das colônias após o processo de fusão ou divisão (área final) menos a área inicial dividido pelo número de dias entre as observações. Ou seja, pela mesma fórmula apresentada acima, porém os valores da área_{final} são os resultantes dos processos de fusão ou divisão e área_{inicial}, o tamanho da(s) colônia (s) envolvidas antes do evento. Então, considerando-se que apenas duas colônias estão envolvidas em um processo de divisão ou fusão, a taxa de ocupação a fórmula fica:

$$\bullet \quad \text{taxa de ocupação} = \frac{\text{área}_{(\text{fusão/divisão})} - (\text{área}_{(\text{inicial colônia 1})} + \text{área}_{(\text{inicial colônia 2})})}{\text{nº de dias entre as fotografias}}$$

A colônia perde espaço ocupado quando a soma da área inicial 1 com a 2 é maior do que a área resultante do processo de fusão/ divisão (na fórmula acima, A_(fusão/divisão)).

Para analisar estes dados foi realizado um teste de contingência (qui-quadrado) para verificar se existe uma tendência a perder ou ganhar espaço depois de uma fusão ou divisão. O teste foi montado de forma que qualquer resultado da taxa de ocupação com valor negativo recebeu o valor -1, e os resultados positivos receberam o valor 1 (Tab. 2) O número de ocorrências 1 ou -1 foi contado para as fusões e divisões.

Tab. 2: Representação da tabela utilizada para o teste de independência com as taxas de ocupação do espaço.

	-1	+1	total
fusão	nº de ocorrências	nº de ocorrências	
divisão	nº de ocorrências	nº de ocorrências	
total			

2.4 Descrição das coletas:

Dez colônias de tamanhos variados foram coletadas mensalmente, a partir de julho de 2003 a maio de 2004.

O material foi conservado em formalina 10% e levado para laboratório para ser estudado sob a magnificação de um microscópio estereoscópico.

A partir destas coletas, os seguintes dados puderam ser obtidos:

a- área em mm^2

b- número de ovos incubados

c- número de larvas dentro das colônias

d- número de zoóides por mm^2

As variáveis **a** e **b** foram medidas colocando-se as colônias coletadas em papel milimetrado e desenhando-se o perímetro das mesmas.

Para as outras análises, as espículas das colônias foram descalcificadas com a imersão do material em ácido clorídrico (HCl) diluído a 3%. A eliminação das espículas é necessária para uma melhor visualização dos zoóides, gônadas femininas e larvas no microscópio estereoscópico.

O número total de ovos e larvas incubadas foi contado para cada colônia. Os didemnídeos incubam embriões e larvas na túnica, e sua presença é um conveniente indicador da reprodução (Millar, 1974). O número de zoóides por mm^2 foi estimado a partir de um pequeno corte de uma área central do animal medida com papel milimetrado. Depois de contado, o número de zoóides foi dividido pela área do corte para saber o número de zoóides em cada mm^2 da colônia. A densidade dos zoóides é um importante indicador da taxa de brotamento e sua comparação com o tamanho da colônia indica se esta taxa modifica-se com o tamanho das colônias.

2.5 Análise dos dados:

Os resultados obtidos pelas fotografias foram ajustados para que pudessem ser comparados. Devido ao fato de no verão as fotografias terem sido mais freqüentes do que

no inverno e o intervalo entre as mesmas ter sido diferente, os resultados obtidos foram divididos pelo número de dias transcorridos entre as observações. Transformações de dados também foram necessárias para a obtenção de dados normais, utilizando-se o logaritmo da maior parte das variáveis. Em alguns casos, devido à ocorrência de zeros, foi adicionado o valor 1 e depois feito o log do novo valor para que os números zeros também pudessem ser utilizados nas análises (já que o log de zero não existe).

Depois de ajustados, os valores foram comparados por diferentes testes (ANOVA, Teste- t , testes não-paramétricos como Kruskal-Wallis e correlações). Análises não-paramétricas foram utilizadas quando a normalidade e/ou homocedasticidade das variáveis não foram alcançadas. A análise que foi feita para cada variável será descrita nos resultados com maior detalhamento.

Muitos dos resultados obtidos apresentaram valores com uma ampla variação entre si; ou seja variâncias/desvio padrões grandes. Tentou-se, da melhor forma possível, torná-los normais, mas em muitos casos isto não foi possível. Nas ocasiões em que análises não-paramétricas foram utilizadas, os valores mínimo, máximo, da mediana, e intervalo de 25-75% dos dados serão apresentados e os gráficos apresentarão o intervalo de 25%-75% dos dados, na forma de um ranking dos mesmos.

3. Resultados:

Para uma melhor visualização dos resultados, apresentarei em seguida duas fotografias de um mesmo agregado após um intervalo de 18 dias (as fotos referem-se a dados dos dias 14/2/2003 e 3/3/2003, respectivamente. As fotos escolhidas (Fig. 3 e 4) representam o agregado mais simples do experimento e, por isso o de mais fácil visualização. Na foto, cada cor de elipse refere-se à mesma colônia e a dinâmica de cada uma será explicada a seguir.

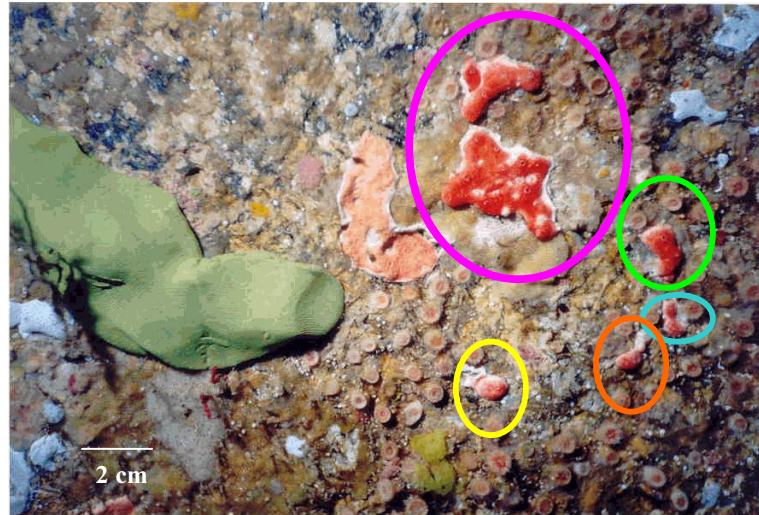


Fig. 3: Fotografia de um agregado no dia 14/2/03.

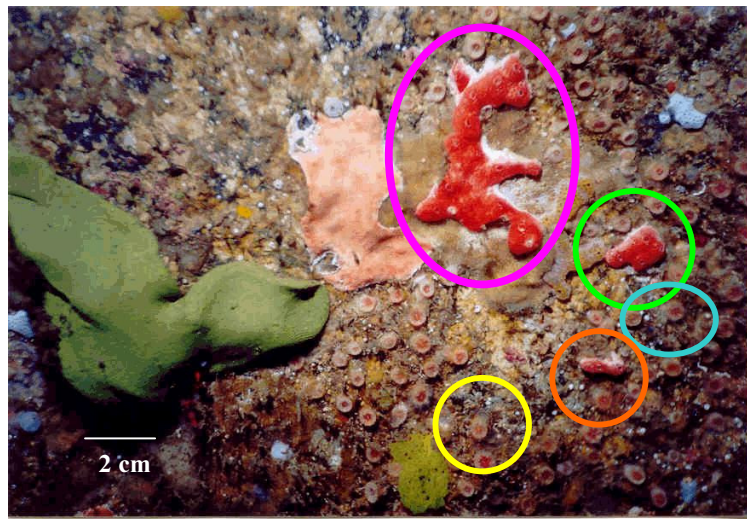


Fig. 4: Fotografia do mesmo agregado no dia 3/3/03.

A colônia marcada com rosa sofreu uma união; a verde não sofreu nenhuma alteração relevante, apesar de ter mudado um pouco de forma. A colônia marcada com azul morreu e permaneceu o pólipos de zoantídeo; a vermelha cresceu e a amarela também morreu. No exemplo acima, nenhum evento de recrutamento e divisão pôde ser observado.

3.1 Resumo dos resultados obtidos:

Todos os resultados que serão apresentados a seguir estão resumidos nas duas tabelas abaixo, a primeira resumindo as comparações entre inverno e verão e a segunda, as correlações. O único resultado que não foi resumido abaixo foi o referente à comparação entre n° de divisões e fusões, que mostrou um maior número de fusões tanto no verão como no inverno.

Tab. 3: Resumo dos resultados das comparações entre verão e inverno. > = maior n°; < = menor; NS = sem diferença estatística.

	verão	inverno
Ovos	presente	ausente
Larvas	presente	ausente
N° de recrutamentos	>	<
Área da colônia	<	>
N° de colônias	>	<
Tx. cresc. +	<	>
Tx. cresc. -	NS	NS
N° de divisões	NS	NS
N° de fusões	NS	NS
Tx. mortalidade	>	<

Tab. 4: Resumo dos resultados das correlações obtidas. NS = sem significância; + correlação significativa e positiva entre as variáveis.

variável 1	variável 2	resultado
tx. crescimento positivo	tam. inicial da col. no verão	+
tx. crescimento positivo	tam. inicial da col. no inverno	NS
tx. crescimento negativo	tam. inicial da col. no verão	NS
tx. crescimento negativo	tam. inicial da col. no inverno	NS

n° de ovos	área da colônia	+
n° total de ovos por zoóide	área da colônia	+
n° de zoóides por mm ²	área da colônia	NS
n° total de zoóides	área da colônia	+

3.2 Reprodução sexuada:

3.2.1 Número de ovos e larvas

Os ovos e larvas não foram observados nas coletas do inverno e só começaram a aparecer a partir de novembro de 2003 até a última coleta, maio de 2004 (Figs. 5 e 6).

É interessante observar que os picos de larvas sempre são encontrados 1 mês após os máximos de ovos. Por exemplo, o pico de janeiro em ovos é visto em fevereiro nas larvas e o de março é visto em abril no gráfico a respeito das larvas.

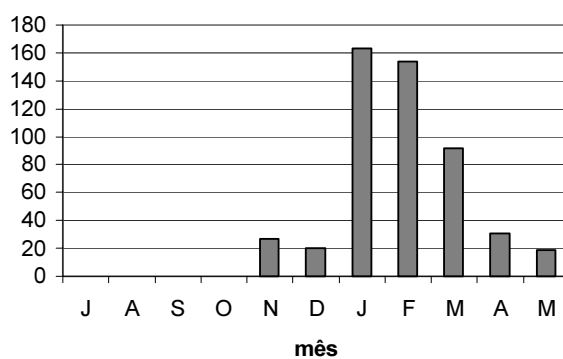


Fig. 5: Variação do número de ovos (somados em 10 colônias) de *D. rodriguesi* ao longo das coletas mensais (julho 2003 a maio 2004).

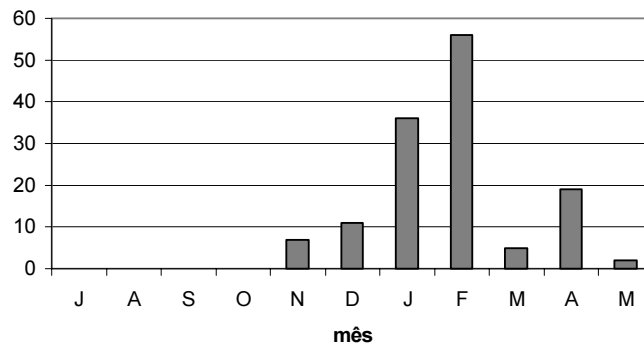


Fig. 6: Variação do número de larvas (somadas em 10 colônias) de *D. rodriguezi* ao longo das coletas mensais (julho 2003 a maio 2004).

3.2.2 Taxa de recrutamento no inverno e verão:

A taxa de recrutamentos observados nas fotografias foi maior no verão que no inverno ($t = -3,7975$, $p < 0,001319$; inverno: $n = 9$ e verão: $n = 11$; Fig. 7). A variável utilizada para o teste- t foi o log da taxa de recrutamento +1. A média da taxa de recrutamentos foi de 0,1180/dia no inverno com desvio padrão 0,1057 e no verão 0,4606/dia e d.p. 0,2846.

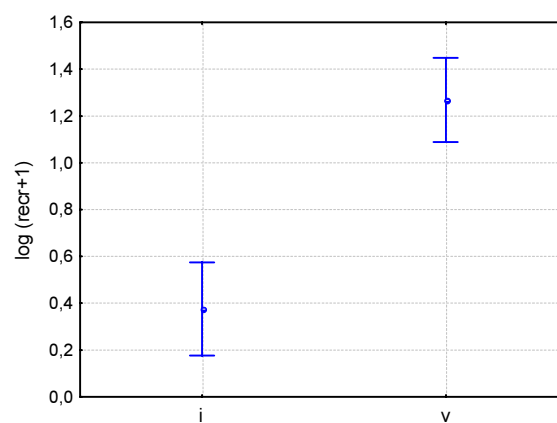


Fig. 7: Comparação do recrutamento entre as estações do ano (i: inverno e v: verão).

3.2.3 Tamanho mínimo da colônia para apresentar ovos e correlação do número de ovos vs. tamanho:

A menor colônia coletada tinha 10 mm² e a menor que possuía ovos tinha o tamanho de 26 mm². Foi testada a correlação entre tamanho da colônia e número de ovos.

A primeira correlação testou as variáveis área da colônia e número de ovos e, de fato, colônias maiores possuem proporcionalmente um número maior de ovos (Spearman ρ : 0,6253; $p < 0,001$; $n:70$). Uma outra correlação testou as seguintes variáveis: número total de ovos na colônia dividido pelo número total de zoóides (ou seja ovos por zoóide) como uma variável e o tamanho da colônia e, também foi verificada significância nesta correlação (Spearman ρ : 0,5489; $p < 0,001$; $n:69$). Os gráficos abaixo mostram a relação das variáveis em logaritmo (Figs. 8 e 9).

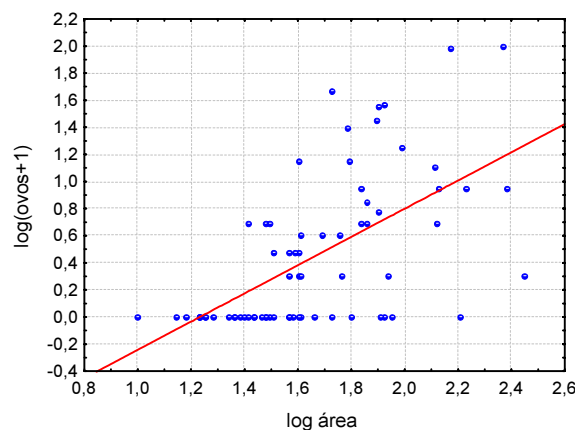


Fig. 8: Gráfico de dispersão do n° de ovos e área das colônias de *Didemnum rodriguesi*.

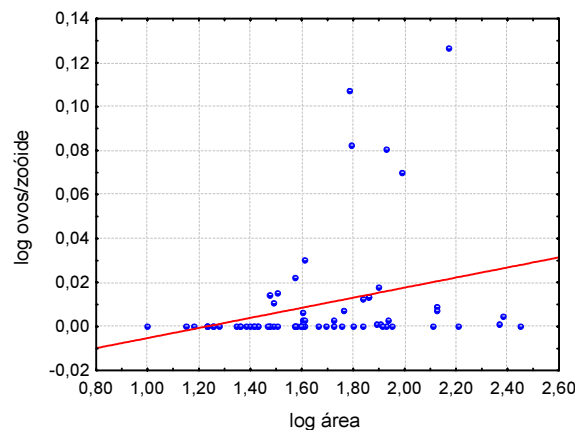


Fig. 9: Gráfico de dispersão de ovos/zoóide e área das colônias de *Didemnum rodriguesi*.

3.3 Reprodução assexuada:

3.3.1 Tamanho da colônia vs. estação do ano (inverno e verão):

Devido a variâncias não homogêneas, o teste utilizado foi o não-paramétrico Kruskal-Wallis e diferenças significativas nas áreas da colônia entre as estações do ano foram observadas ($\chi^2 = 73,4588$; gl=1 e $p < 0,0001$; inverno: $n = 140$; verão: $n = 306$; Fig. 10), sendo o inverno maior que as demais estações. O elevado valor de n ocorre porque nesta análise cada colônia funcionou como uma réplica; devido a cada fotografia (agregado) ter um número variado de colônias o valor de n também variou. Esta análise indica que no inverno as colônias são em menor número ($n = 140$), porém maiores, quando comparadas ao número e tamanho das mesmas no verão (verão: $n = 306$).

A mediana da área das colônias no inverno foi $52,7 \text{ mm}^2$, o valor mínimo $3,6 \text{ mm}^2$, o máximo $1199,8 \text{ mm}^2$ e o intervalo 25-75% ficou entre $25,6$ - $109,2 \text{ mm}^2$. No verão os valores foram: mediana $13,9 \text{ mm}^2$; min. $1,2 \text{ mm}^2$; max. $791,9 \text{ mm}^2$ e 25-75% $7,8$ - $28,9 \text{ mm}^2$. A figura 10 representa os valores em forma de ranking, no teste Kruskal-Wallis.

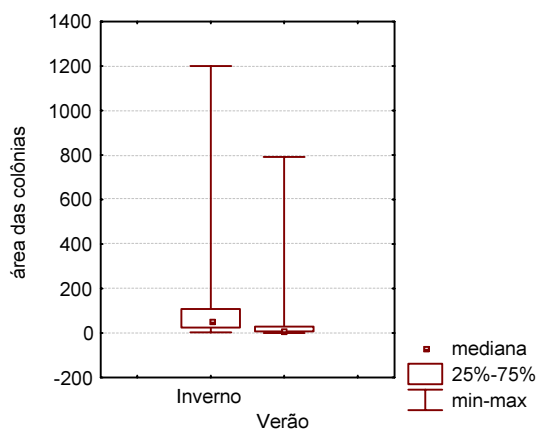


Fig. 10: Área (mm^2) das colônias de *D. rodriguesi* por estação do ano.

3.3.2 Taxa de crescimento:

O crescimento de *D. rodriguesi* provou ser um fenômeno extremamente complexo. As colônias aumentaram e diminuíram de tamanho, fundiram, dividiram e

desapareceram no decorrer do experimento. Procurou-se, da melhor forma possível, separar cada evento e estudá-los independentemente. Para calcular a taxa de crescimento foram utilizados somente os dados de colônias que não sofreram divisões ou fusões, e quando pelo menos três observações seguidas da mesma colônia foram conseguidas.

Devido a variâncias não homogêneas, a variável taxa de crescimento foi transformada em log para fazer a comparação entre inverno e verão, com teste *t*-Student. Foram observadas taxas de crescimento positivas e negativas, que foram analisadas separadamente, as últimas analisadas com o módulo do valor.

O crescimento positivo foi maior no inverno do que no verão ($t = 3,874$ e $p=0,0003$; inverno: $n = 36$ e verão: $n = 25$). As médias das taxas de crescimento no inverno foram $3,19 \text{ mm}^2$ ao dia (erro padrão: $0,49$), enquanto que no verão foram de apenas $0,70 \text{ mm}^2$ ao dia (erro padrão: $0,59$) (Fig. 11).

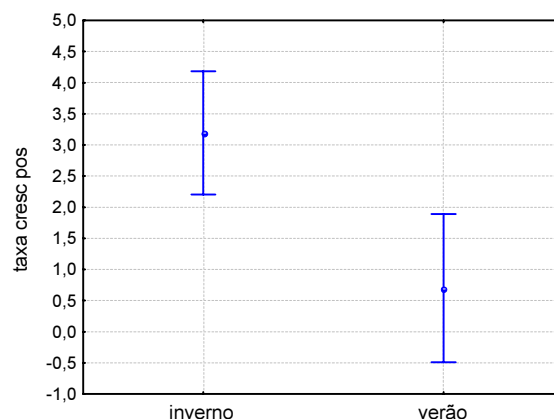


Fig. 11: Taxa de crescimento positivo ao dia em mm^2 das colônias de *D. rodriguesi* nas duas estações (inverno e verão). A barra vertical indica o intervalo de confiança de 95% e o ponto a média dos valores.

O teste- *t* não confirmou a existência de diferenças nas taxas de crescimento negativas no inverno e verão ($t= 1,77$ e $p= 0,092$; inverno: $n = 16$ e verão: $n = 5$; Fig. 12).

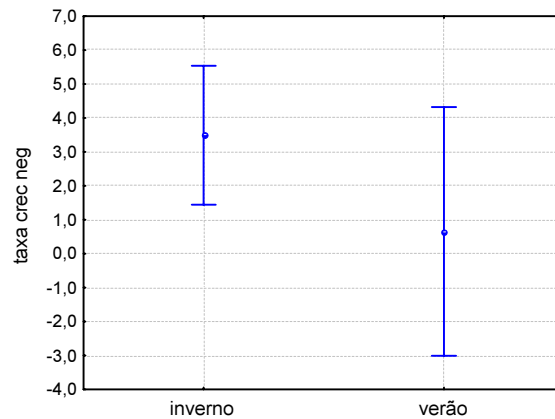


Fig. 12: Taxa de crescimento negativo ao dia em mm² das colônias de *D. rodriguesi* nas duas estações (inverno e verão). A barra vertical indica o intervalo de confiança de 95% e o ponto a média dos valores.

Algumas correlações procuraram avaliar a relação entre a taxa de crescimento e o tamanho da colônia, no inverno e verão para constatar se colônias pequenas crescem mais rapidamente do que as grandes. No inverno, a correlação entre a taxa de crescimento e o tamanho inicial não foi significativa (Spearman $\rho = -0,1219$, $p=0,3977$ e $n=51$), mas no verão colônias pequenas apresentaram as maiores taxas de crescimento (Spearman $\rho = -0,3867$, $p=0,0012$ e $n=67$). O gráfico de dispersão (Fig. 13) mostra as variáveis taxa de crescimento e tamanho inicial das colônias.

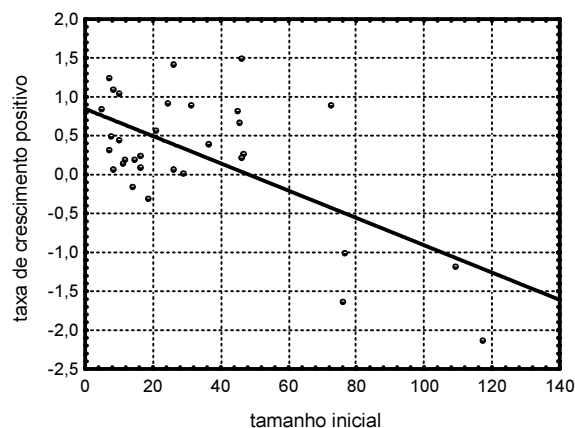


Fig. 13: Gráfico da taxa de crescimento positivo e a tamanho inicial das colônias de *Didemnum rodriguesi* no verão.

3.3.3 Densidade de zoóides:

A densidade de zoóides (número de zoóides/mm²) varia bastante em relação ao tamanho da colônia e não há correlação entre as duas variáveis (Spearman $\rho = -0,0610$, $p = 0,5424$ e $n = 102$). Provavelmente um outro fator influencie a densidade de zoóides nas colônias. Porém, existe uma correlação entre o número total de zoóides na colônia e a área desta (Spearman $\rho = 0,4516$, $p < 0,0001$ e $n = 196$). Ou seja, maiores colônias apresentam um maior número de zoóides. A figura abaixo (Fig. 14) mostra a relação das variáveis densidade e área da colônia.

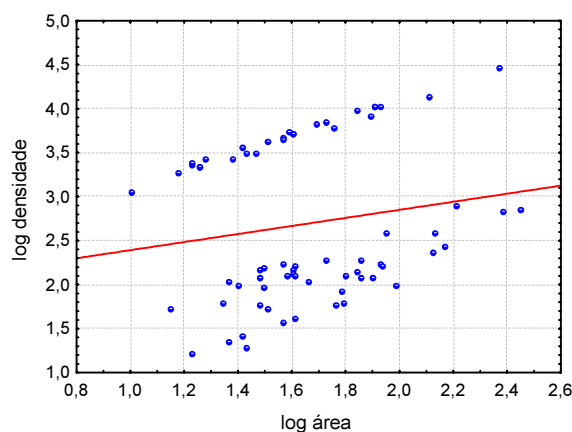


Fig. 14: Gráfico do n° de zoóides/mm² (densidade) e área das colônias de *Didemum rodriguesi*.

3.3.4. Número de divisões vs. estação do ano:

A média do número total de divisões ajustado foi igual no inverno e verão ($t = -1,054$ e $p = 0,3012$; inverno: $n = 18$ e verão: $n = 11$; Fig. 15). No inverno, a média foi de 0,000208 divisões por dia (desvio padrão 0,000324). No verão, houve 0,000379 divisões por dia (d.p 0,000554). Para análise, utilizou-se o log do número de divisões ajustado + 1 e comparou-se este valor nas duas estações: verão e inverno através de um teste *t*-Student.

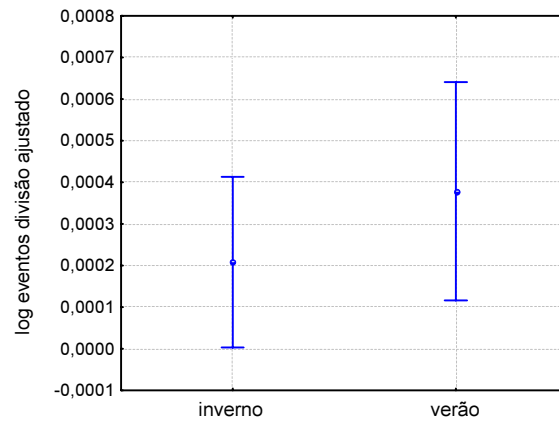


Fig. 15: Número de divisões ajustado para *D. rodriguesi* por estação do ano. A barra vertical indica o intervalo de 95% de confiança e o ponto a média.

3.4 Outros processos:

3.4.1 Número de fusões vs. estação do ano:

A média do número total de fusões ajustado foi igual no inverno e verão ($t = -1,0284$ e $p = 0,3132$; inverno: $n = 18$ e verão: $n = 10$; Fig. 16). A média do nº de fusões ajustado, por dia foi de 0,005254 (desvio padrão 0,005886) e no verão 0,008466 (dp 0,010756). Para análise, utilizou-se o teste *t*- Student com os dados: log do número de fusões ajustado + 1 nas duas estações do ano.

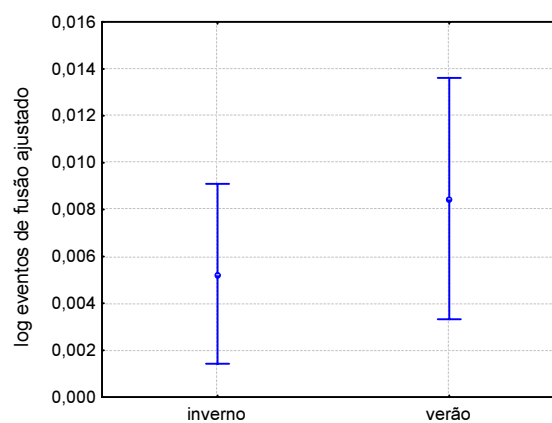


Fig. 16: Número de fusões ajustado para *D. rodriguesi* por estação do ano. A barra vertical indica o intervalo de 95% de confiança e o ponto a média.

3.4.2 Número de divisões vs. fusões:

O número total de divisões ajustado foi comparado ao de fusões, nas duas estações com o teste *t*- Student e devido a variâncias não homogêneas este teste foi realizado com estimativas separadas de variâncias. Houve diferença significativa e a média do número de fusões superou o de divisões ($t = -4,7925$ e $p < 0,0001$; divisão: $n = 39$ e fusão: $n = 38$; Fig. 17). Inicialmente, este teste foi feito separadamente, em cada estação, e em ambas, a média do número de fusões foi maior do que o de divisões e por isso os números de divisões e fusões foram somados para cada estação e um só teste apresentado, que engloba os resultados das duas estações.

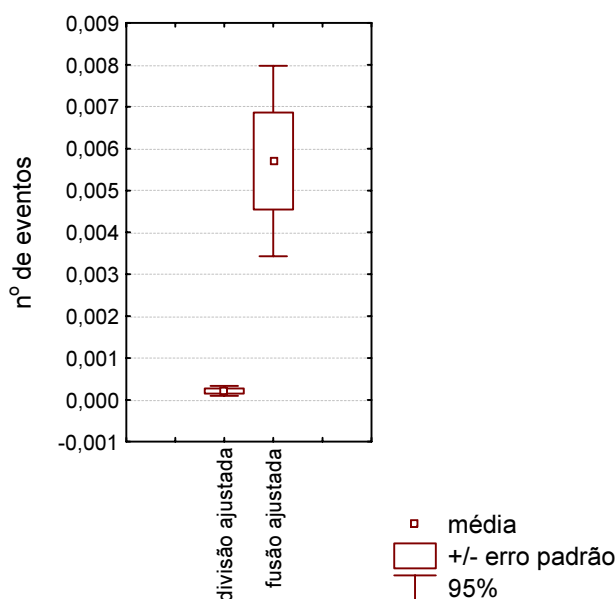


Fig. 17: Número de fusões comparados aos de divisões no inverno e verão. A barra vertical indica o intervalo de 95% de confiança e o ponto a média.

3.4.3 Taxa de ocupação do substrato pelos processos divisão/fusão:

Foram encontradas taxas tanto positivas como negativas de ocupação para ambos os processos de divisão e fusão. Foi feito um teste de contingência (qui-quadrado) e as

variáveis foram consideradas independentes ($\chi^2 = 1,29$ e $p=0,2551$; divisão: $n = 47$ e fusão: $n = 41$), isto é, não existe maior tendência de ganho ou perda de espaço em nenhum dos dois processos observados (divisão e fusão de colônias).

3.4.4 Taxa de mortalidade:

Por causa de variâncias não homogêneas foi utilizado o teste não-paramétrico Kruskal-Wallis para comparar inverno e verão e verificou-se que a taxa de mortalidade no verão foi maior do que no inverno ($\chi^2 = 5,0101$ e $p= 0,0252$; inverno: $n= 19$ e verão $n = 44$; Fig. 18). A mediana da taxa de mortalidade no inverno é 0,0038 mortes ao dia, o valor mínimo zero, o máximo 0,0195 mortes ao dia e o intervalo 25-75%: 0- 0,0068. No verão, estes números são: mediana 0,0069; min:0; max. 0,0345 e 25-75% 0,0010 e 0,0147 mortes ao dia.

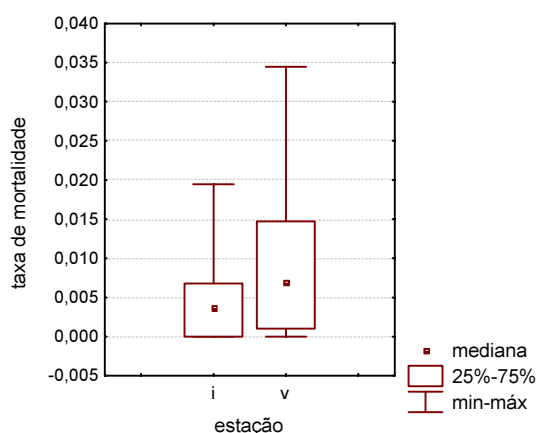


Fig. 18 Mortalidade das colônias de *Didemnum rodriguesi* por estação do ano.

4. Discussão:

Os resultados demonstram a existência de uma alternância entre reprodução sexuada e assexuada em *D. rodriguesi*. No inverno, a reprodução assexuada é mais intensa e ocorre uma maior produção de zoóides. Este fenômeno é evidenciado não

apenas por uma maior taxa de crescimento (Fig. 11), mas também por uma maior área das colônias neste período (Fig. 10) e ausência de ovos e larvas incubadas (Fig. 5 e 6). Existe uma correlação positiva entre número total de zoóides e a área da colônia (Spearman $\rho = 0,4516$, $p < 0,0001$ e $n = 196$), então, para a colônia, aumentar de tamanho significa realmente aumentar o número de zoóides presentes, uma das formas de reprodução assexuada. As colônias de maior tamanho foram encontradas no inverno.

Existe uma sazonalidade na produção de gametas, que ocorreu de novembro de 2003 a maio de 2004. No mês de junho a coleta não pôde ser realizada e não há dados a respeito deste mês, porém a coleta do mês de junho de 2003 já apresenta uma redução no número de ovos e larvas, quando comparado a outros meses (Fig. 5 e 6). Os dados sobre o recrutamento da espécie também demonstram a existência significativa de períodos de maior e menor recrutamento (Fig. 7). Estes resultados indicam que para *D. rodriguezi*, a reprodução sexuada e assexuada não se substituem ao longo do ciclo de vida do animal. Por exemplo, não há primeiro um investimento em crescimento e depois em reprodução, mas sim uma alternância que ocorre sazonalmente.

Estes resultados concordam com os de outros autores, que também verificaram períodos alternados de reprodução sexuada e assexuada para ascídias coloniais (Gotelli 1987; Davis, 1989; Durante & Sebens, 1994 entre outros). Esta alternância muitas vezes está associada à localização geográfica da espécie. A temperatura geralmente é considerada um dos fatores físicos mais importantes controladores do ciclo de vida dos organismos (Bhaud *et al.*, 1995) e, aparentemente determina se a reprodução sexuada pode ocorrer durante o ano inteiro ou apenas nos meses quentes (Millar, 1971). As ascídias de regiões mais quentes tendem a ter períodos expandidos de reprodução sexuada (Goodbody, 1961) enquanto as presentes em águas frias reproduzem-se apenas nos períodos em que a água está mais quente (Millar, 1958). Populações de *Botryllus schlosseri* que ocorrem em uma ampla distribuição latitudinal mostram uma grande plasticidade na duração do período reprodutivo, com as populações do norte reproduzindo-se apenas no verão e as do sul durante o ano inteiro (Millar 1971). Turon & Becerro (1992) também observaram um padrão sazonal para algumas espécies de ascídias, com um maior crescimento no inverno.

O local de estudo possui forte variação da temperatura da água no decorrer do ano: nos meses de verão a água fica em torno dos 23-25°C enquanto no inverno, 18-19°C. Este gradiente térmico pode ser o responsável pela alternância nos tipos de reprodução para *Didemnum rodriguesi*. No entanto, experimentos adicionais mostram-se necessários para uma melhor compreensão de quais fatores, ambientais ou genéticos, são responsáveis por este padrão sazonal. Uma sugestão fica sendo a comparação do ciclo reprodutivo de populações desta espécie presentes em diferentes latitudes do país.

A literatura apresenta relatos de outras variáveis, que em menor escala, também influenciaram a reprodução sexuada e assexuada de animais bentônicos. Em um experimento no qual o tamanho de *Botryllus schlosseri* era controlado em substrato artificial, as colônias restringidas a tamanho menor tornaram-se férteis mais cedo e com tamanho menor do que as que puderam chegar a um tamanho maior (Harvell & Grosberg, 1988). Da mesma forma, colônias de um briozoário incrustante, quando sob efeitos de alta densidade e competidores interespecíficos, cessam a reprodução assexuada (crescimento) e iniciam a reprodução sexuada (Harvell *et al.*, 1990). Tais experimentos demonstram que organismos coloniais podem possuir plasticidade quanto ao tempo de duração da reprodução, independentemente dos ciclos sazonais. O segundo capítulo desta dissertação abrangerá o assunto plasticidade em aspectos reprodutivos com maior detalhamento.

Convém comentar que enquanto as taxas de crescimento positivo foram maiores no inverno, as negativas não foram significativamente diferentes entre as duas estações (Fig. 12), ou seja, a taxa com que as colônias diminuem de tamanho no inverno e verão é semelhante e deve ser um processo que ocorre continuamente. No entanto há uma tendência da taxa de crescimento negativo no inverno ser maior do que no verão. Talvez este processo represente uma forma de reabsorção de partes mais antigas da colônia para serem reutilizadas em seguida, na produção de novos zoóides. A regressão de zoóides e tamanho da colônia é comum em ascídias, principalmente da família Didemnidae. Turon (1992) relata um período em que colônias da ascídia *Polysyncraton lacazei* cessam a alimentação e começam um período de reabsorção da cesta branquial e formação de novo tórax, interpretando-o como um período de rejuvenescimento que expande a vida do zoóide. Davis (1989) também relata um período de degeneração de colônias de ascídias,

que diferiu para a mesma espécie, entre dois locais estudados e esta degeneração quase sempre resultou em fragmentação da colônia. Em *Trididemnum solidum* a degeneração ocorre espontaneamente nas colônias e pequenas partes destas estão freqüentemente desintegrando. Primeiramente, parte da colônia fica coberta por um muco, subsequente desintegra e nesta parte os zoóides estão ausentes. Este fenômeno ocorre especialmente nas colônias em reprodução e de maior tamanho, e também em temperaturas acima de 27°C (Bak *et al.* 1981).

Quanto ao outro tipo de reprodução assexuada encontrada em alguns animais coloniais, a fragmentação, ou divisão de colônias, verificou-se que não houve diferenças no número de divisões entre verão e inverno (Fig. 15). Este processo ocorre, conforme tudo indica, freqüentemente, e faz parte da estratégia de ocupação e também reprodução da espécie. A seguir citarei alguns trabalhos sobre outros animais que realizam a fragmentação e que apontam vantagens reprodutivas para a existência deste evento.

Segundo Lasker (1990), para uma gorgônia plexaurídea, a fragmentação é uma estratégia reprodutiva extremamente bem sucedida, e até 94% de algumas populações desta espécie desenvolvem-se a partir de fragmentos. A espécie estudada por este autor exibe uma menor mortalidade em colônias de maior tamanho e, a partir desta informação, o autor conclui que: 1) fragmentos possuíram maior sobrevivência do que colônias originadas por assentamento larval, e este tipo de estratégia é interessante para espécies que possuem sobrevivência relacionada ao tamanho da colônia; 2) a propagação vegetativa nesta espécie pode aumentar o crescimento da população por gerar propágulos que terão maior chance de alcançar o tamanho reprodutivo; 3) para espécies com baixa fecundidade, a reprodução por fragmentos seria mais vantajosa e 4) a fragmentação aumenta a quantidade de novas colônias formadas e ao mesmo tempo a quantidade de colônias carregando um mesmo genótipo, e isto aumentaria a produção de larvas.

Alguns autores encontraram taxas de crescimento maiores para alguns organismos coloniais de pequenos tamanhos (Stoner, 1989; Karlson, 1988) e acreditam que a fragmentação seja um mecanismo para aumentar a taxa de crescimento de um genótipo, na medida em que mantém as colônias sempre pequenas. Colônias menores: 1) têm maior quantidade de periferia em relação à área sobre a qual podem crescer (Stoner, 1986; Ryland *et al.*, 1984), 2) são mais eficientes na obtenção de alimento (McFadden, 1986,

Bishop & Bahr, 1973) e 3) alocam menor quantidade de energia para a reprodução (Stoner, 1989).

Ryland *et al.* (1984) sugerem, como uma hipótese, que colônias menores possam ter mais adesão ao substrato e também taxas de crescimento maiores e que a fragmentação é um processo que maximiza a área de superfície em relação ao volume e pode aumentar a eficiência de alimentação ou crescimento.

Para *D. rodriguesi*, no momento em que as colônias mais investem em crescimento (inverno), as taxas de crescimento e tamanho da colônia não apresentaram correlação, ou seja, o tamanho da colônia não interfere na taxa que esta cresce.

A menor colônia de *D. rodriguesi* coletada tinha 10 mm² e a menor coletada que possuía ovos incubados 26 mm² e a partir do tamanho de 30 mm² muitas colônias foram encontradas férteis. Provavelmente, o tamanho de 25 a 30 mm² seja o tamanho mínimo para as colônias apresentarem ovos. A menor colônia que continha larvas era de 32 mm². Em um estudo que relaciona a taxa de crescimento e o tamanho mínimo para uma colônia apresentar ovos, Karlson (1988), estudando duas espécies de zoantídeos verificou que uma espécie possuía um tamanho pré-determinado para começar a reproduzir-se sexualmente e esta espécie apresentou uma maior taxa de crescimento em colônias pequenas. A segunda espécie de zoantídeo tinha ovos e larvas em tamanhos pequenos e não apresentou significância na correlação entre tamanho e taxa de crescimento. Estes resultados concordam com os encontrados para *D. rodriguesi*: colônias pequenas também apresentam ovos e larvas e as taxas de crescimento das colônias menores são semelhantes às das colônias maiores (não há correlação entre tamanho e taxa de crescimento).

No verão, o crescimento das colônias não ocorre tão intensamente quanto no inverno, mas verificou-se uma correlação negativa entre tamanho da colônia e taxas positivas de crescimento (Spearman $\rho = -0,3867$; $p=0,0012$ e $n=67$), ou seja, nesta época do ano as colônias menores crescem mais, apesar deste crescimento ser significativamente menor do que no inverno. Uma hipótese para explicar este resultado seria um maior investimento em reprodução sexuada em colônias maiores (que apresentam um número maior de ovos e larvas incubadas) na forma de produção de gametas masculinos e femininos, e um maior investimento, nas colônias menores em

crescimento. Assim, as de menor tamanho podem chegar a um tamanho que seja mais fértil em menor tempo. Bak *et al.* (1981) encontrou diferenças significativas nas taxas de crescimento de colônias contendo larvas, que cresciam mais lentamente, e aquelas não-reprodutivas, que por sua vez cresciam mais rapidamente.

Outra explicação, é que as colônias de tamanho pequeno continuam crescendo na mesma velocidade enquanto as colônias maiores e férteis crescem menos. Ao comparar a velocidade das colônias menores com as maiores, parece que as menores crescem mais rápido apenas porque as maiores (e mais férteis) são mais lentas no crescimento, então a questão, na verdade, é a ausência de referência.

Em relação ao número de fusões efetuadas por *D. rodriguezi*, pudemos constatar que foi igual no verão e inverno (Fig. 16). Duyl *et al.* (1981) comentam que a fusão de colônias geneticamente idênticas de *T. solidum* produz colônias de tamanhos maiores em períodos relativamente curtos de tempo e que isto seria uma qualidade funcional para uma espécie que começa a reproduzir-se em um tamanho específico. *Didemnum rodriguezi* apresentou ovos e larvas em colônias de tamanho mínimo de 26 mm², porém não se sabe a origem desta colônia, que pode ter sido formada da fragmentação de uma colônia fértil. De acordo com Bak *et al.* (1981) é preciso diferenciar colônias que não estão reproduzindo até chegarem a um determinado tamanho, de colônias que foram originadas da divisão de colônias reprodutivas maiores e que encontram-se férteis. Houve uma correlação entre o número de larvas e ovos incubados e o tamanho da colônia, que aponta que colônias maiores possuem proporcionalmente um número maior de larvas e ovos. Por isso, para esta espécie, talvez a fusão seja uma forma de potencializar a reprodução sexuada, já que colônias maiores possuem um número maior de ovos e larvas. Também foi encontrado uma correlação positiva entre número de zoóides e área da colônia, que indica que colônias maiores possuem um número maior de zoóides, e, por sua vez maior produção de gametas, e por conseguinte, maior número de larvas, conforme foi descrito acima. Uma outra vantagem de colônias maiores quanto ao número de larvas incubadas é que os didemnídeos incubam as larvas fora dos zoóides, então colônias maiores têm mais espaço para incubar larvas uma vez que a densidade de zoóides não muda com o tamanho da colônia.

No entanto, é preciso considerar que as fusões ocorrem tanto no verão como no inverno, mesmo quando a reprodução sexuada cessa. De alguma forma, este evento deve auxiliar a espécie em outros aspectos ecológicos, como por exemplo, uma menor mortalidade em colônias maiores. Geralmente os benefícios de colônias maiores incluem maior sobrevivência, aumento da habilidade competitiva e maior sucesso reprodutivo e um menor risco de mortalidade (Karlson, 1988). Turon & Becerro (1992) encontraram uma relação entre maior tamanho e menor mortalidade para duas espécies de ascídias. Para *D. rodriguezi* esta relação não foi verificada, e fica sendo uma sugestão para novas pesquisas que venham a ser feitas com esta espécie, nesta área.

O número de eventos de fusão foi significativamente maior do que os de divisão (Fig. 17) tanto no inverno como no verão, ou seja, a espécie investe mais em fusões (aumento do tamanho) do que divisões. Isto, de certa forma faz sentido, ao considerar-se que um dos argumentos mais favoráveis em relação às divisões, é que este evento causa maiores taxas de crescimento em colônias menores, mas isto não ocorre para *D. rodriguezi*. Além disso, as fusões potencializam a reprodução sexuada, como também já foi explicado anteriormente. Ou seja, para *D. rodriguezi* parece ser mais vantajoso possuir um tamanho maior; as fusões são um processo que permite um rápido aumento, sem a produção de novos zoóides e gastos energéticos por parte da colônia.

Quanto à mortalidade observada, pode-se dizer que ocorre durante o ano inteiro, mas em maior proporção no verão (Fig. 18). Os resultados de tamanho e número das colônias nas estações do ano verão e inverno mostram uma desigualdade no tamanho das colônias nesses períodos (Fig. 10), mas as análises contém um número bastante variado de colônias (n) que mostra as conseqüências da maior mortalidade no verão. O maior número de colônias nas fotos durante o verão proporciona uma maior aproximação das mesmas, o que poderia auxiliar no êxito da fecundação. Apesar de uma maior mortalidade neste período mais quente, o número de colônias total nas fotos continua a ser numeroso neste período (n= 306 nas áreas fotografadas). Porém, esta alta mortalidade causa uma diminuição do número de colônias, o que é visto no número de colônias no inverno (n= 140). Rinkevich *et al.* (1993) também acharam flutuações sazonais em populações de *Botrylloides* sp. em Israel que consistiram de um aumento no número de colônias e da área ocupada por elas no verão. No inverno, as colônias de maior tamanho

tiveram maior sobrevivência. O aumento de tamanho no período de inverno também deve ser uma estratégia de sobrevivência para *D. rodriguezi*. Durante o trabalho em campo, pôde-se observar peixes forrageando sobre o substrato e alimentando-se principalmente das algas presentes. Muitas vezes, durante este processo colônias de *D. rodriguezi* acabavam sendo retiradas do substrato. É possível que a maior mortalidade no verão de *D. rodriguezi* esteja associada, pelo menos em parte, a um maior forrageamento dos peixes.

Seria interessante verificar o quão geneticamente semelhantes são colônias próximas entre si, quando comparadas com colônias mais distantes. Ryland *et al.* (1984) sugere que a aproximação das colônias poderia prover a condição mais favorável para uma fertilização cruzada entre elas e assim, evitar a auto-fecundação. A confirmação desta hipótese pode ser feita com a análise genética de colônias adjacentes e distantes entre si, para ver se colônias próximas apresentam maior variabilidade do que colônias distantes entre si. Para *D. rodriguezi* é provável que as colônias mais próximas sejam geneticamente mais semelhantes em função da dinâmica constante de fusões e divisões. As fusões ocorrem com indivíduos geneticamente próximos e as larvas têm uma dispersão larval a curtas distâncias e tendem a se fixar próximas aos adultos. Neste caso os agregados não estariam favorecendo reprodução cruzada, mas algum tipo de vantagem quanto à ocupação do espaço ou maior sobrevivência do genótipo.

Verificou-se que os processos de fusão e divisão não aumentam a área ocupada pela colônia, ou seja, a área (taxa de ocupação do substrato) ganha ou perdida durante os processos de fusão ou divisão é a mesma. Este resultado também foi obtido para *Didemnum molle*: o substrato ocupado num período de 12 dias, após divisões e movimentação das colônias, não foi aumentado (Cowan 1981).

Uma consideração interessante apontada por Bak *et al.* (1981) e que traz outras possíveis vantagens nos processos de fusão e divisão é que colônias individuais de ascídias desaparecem, mas não se sabe quanto do recruta original sobrevive devido às divisões e fusões, e, neste sentido as colônias de *Trididemnum solidum* estudadas podem ser potencialmente imortais.

Os fenômenos de fusão/divisão e movimentação sob o substrato são complexos, mas provavelmente devem possuir alto valor adaptativo já que são observados em muitos

taxa, muitas vezes filogeneticamente distantes como é o caso de esponjas e ascídias. Talvez a fragmentação para esponjas, que é responsável por mais de noventa por cento da reprodução de algumas espécies (Wulf, 1991), fosse primeiramente indispensável como forma de aumento da biomassa e sobrevivência das mesmas, mas que, com o decorrer da evolução, juntamente com a união e deslocamento sob o substrato, tenha adquirido uma outra função. Esponjas também são capazes de perceber uma variedade de informações ambientais (disponibilidade de alimento, exposição à sedimentação, residentes da mesma espécie) e elaborar uma resposta complexa baseada em movimentos sobre o substrato que pode resultar em fusão (Maldonado & Uriz, 1999). Para estes autores, este tipo de resposta sugere que a locomoção faça parte de uma estratégia de mudança para locais mais adequados.

A influência da fragmentação no destino dos genótipos mostrou-se positiva para alguns organismos e negativa para outros, e isto sugere que comparações entre os taxa podem levar a teorias mais abrangentes da propagação assexuada. Isto dependeria da identificação de quais tendências caracterizam os diferentes taxa e se estas podem influenciar o balanço entre as vantagens e desvantagens da fragmentação (Wulf, 1991).

Larvas e ovos foram encontrados de novembro 2003 a maio 2004 (Fig. 5 e 6), indicando que a reprodução sexuada tem uma grande relevância para a espécie. É claro que ter reprodução sexuada não indica automaticamente manutenção de variabilidade genética, mas é o primeiro caminho para alcançá-la. Uma progênie geneticamente distinta pode diminuir a eficiência de patógenos, parasitas e predadores (Wulf, 1991). Em experimentos com a grama *Anthoxanthum odoratum* foi demonstrada uma desvantagem para a mesma nas ocasiões em que um genótipo estava próximo de clones, do que quando ao redor de genótipos diferentes do seu, pois foi observado um aumento na sobrevivência das plantas por infestação de afídios nas ocasiões em que estavam junto a outras geneticamente distintas (Schmitt & Antonovics, 1986; Ellstrand & Antonovics, 1985).

As reproduções sexuada e assexuada parecem coexistir desde centenas de milhares de anos e até as bactérias, em algumas ocasiões, trocam seus genomas (Stauffer 1999). O aparecimento da reprodução sexuada permite que a troca gênica aumente as probabilidades de sobrevivência. Este tipo de reprodução, por exemplo, ao contrário da assexuada, pode remover mutações deletérias se, após a separação dos cromossomos na

formação dos gametas, o cromossomo deletério é perdido e não produz gametas viáveis. A reprodução sexuada também confere uma maior variabilidade e pode ajudar na sobrevivência da espécie após mudanças ambientais. Porém, este método também possui custos como um gasto energético alto para a produção de gametas, ovos e larvas que serão, em sua maioria perdidos. Uma forma de poupar energia, mas mesmo assim garantir certa variabilidade genética é a encontrada em *D. rodriguezi*: durante determinada época do ano o investimento é maior em reprodução sexuada e no restante, a energia é gasta em crescimento da colônia. Talvez, os eventos de fragmentação e fusão auxiliem nesta dinâmica: enquanto as divisões promovem uma maior propagação de colônias e de um certo genótipo; as fusões potencializam a reprodução sexuada, fertilização cruzada e diminuem a mortalidade de colônias menores ao aumentar seu tamanho rapidamente.

5. Referências bibliográficas:

- ABREU, J.G.N. 1998. Contribuição à sedimentologia da plataforma continental interna de Santa Catarina entre a foz dos rios Tijucas e Itapocu. *Dissertação de Mestrado*. Universidade Federal Fluminense.
- BAK, R.P.M., SYBESMA, J.; DUYL, F.C. 1981. The ecology of the tropical compound ascidian *Trididemnum solidum*. II. Abundance, Growth and Survival. *Mar. Ecol Prog Ser.* **6**: 43-52.
- BHAUD, M.; CHA, J.H.; DUCHÊNE, J.C.; NOZIAS, C. 1995. Influence of temperature on the marine fauna: what can be expected from a climatic change. *J. Therm. Biol.* **20**: 91-104.
- BISHOP, J.W. & BAHR, L.M. 1973. Effects of colony size on feeding by *Lophopodella carteri*. In R.S. Boardman, A.H. Cheetham & W.A. Oliver (Eds), *Animal Colonies: Development and Function Through Time*: 433-437. Stroudsburg: Dowden, Hutchinson & Ross.
- CARLISLE, D.B., 1961. Locomotory powers of adult ascidians. *Proc. Zool. Soc. London.* **135**: 141-146.
- CARVALHO, J.L.B. & SCHETTINI, C.A.F. 1996. Contribuição ao estudo da estrutura oceanográfica do litoral Centro Norte de Santa Catarina. In: 3ª Reunião Especial da SBPC.1996, Florianópolis. *Programa e Anais 3ª Reunião Especial da SBPC. Ecossistemas Costeiros*.
- CARVALHO, J.L.B.; SCHETTINI, C.A.F.; RIBAS, T.M. 1998. Estrutura termohalina do Litoral Centro-Norte Catarinense. *Notas Técnicas FACIMAR, Itajaí, v2 ,p. 181-197*.
- CAULLERY, M. 1895. *Contributions à l'étude des Ascidies composées*. *Bull. Sci. Fr. Belg.* **27**: 1-158.
- CHLUDINSKI, A.P., 2002. Integração de Dados Oceanográficos e Sensoriamento Remoto na Análise Espacial de Águas Costeiras visando a setorização da Reserva Biológica Marinha do Arvoredo e Baía de Tijucas, SC. *Dissertação de Mestrado*. Universidade Federal de Santa Catarina.
- COCITO, S.; SGORBINI, S.; FERDEGHINI, F. 2001. Seasonal and interannual growth of a bryozoan bioconstructor. *Arch. Oceanogr. Limnol.* **22**: 155-158.
- COWAN, M.E. 1981. Field observations of colony movement and division of the ascidian *Didemnum molle*. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* **6**: 335-337.

- DAVIS, A.R. 1989. Contrasting population dynamics and life histories in two populations of the colonial subtidal ascidian *Podoclavella moluccensis*. **Mar. Ecol. Prog. Ser.** **51**: 107-119.
- DAVIS, A.R. & CAMPBELL, D. J. 1996. Two levels of spacing and limits to local population density for settled larvae of the ascidian *Clavellina moluccensis* : a nearest-neighbour analysis. **Oecologia** **108**: 701-707.
- DURANTE, K. M. & SEBENS, K.P. 1994. Reproductive ecology of the ascidians *Molgula citrina* Alder & Hancock, 1848 and *Aplidium glabrum* (Verril, 1871) from the Gulf of Maine, U.S.A. **Ophelia** **39**: 1-21.
- DUYL, F.C.; BAK, R.P.M.; SYBESMA, J., 1981. The ecology of the tropical compound ascidian *Trididemnum solidum*. I. Reproductive Strategy and Larval Behaviour. **Mar. Ecol. Prog. Ser.** **6**: 35-42.
- ELLSTRAND, N.E. & ANTONOVICS, J. 1985. Experimental studies of the evolutionary significance of sexual reproduction. II. A test of the density-dependent selection hypothesis. **Evolution** **39**:657-666.
- GOODBODY, I. 1961. Continuous breeding in three species of tropical ascidian. **Proc. Zool. Soc. Lond.** **136**: 403-409.
- GOTELLI, N.J. 1987. Spatial and temporal patterns of reproduction , larval settlement, and recruitment of the compound ascidian *Aplidium stellatum*. **Mar. Biol.** **94**: 45-51.
- HARVELL, C.D. & GROSBURG, R.K. 1988. The timing of sexual maturity in clonal animals. **Ecology** **69**: 1855-1864.
- HARVELL, C.D.; CASWELL, H.; SIMPSON, P.1990. Density effects in a colonial monoculture: experimental studies with a marine bryozoan (*Membranipora membranacea* L.). **Oecologia** **82**: 227-237.
- HUGHES, N.R.; MANRÍQUEZ, P.H.; MORLEY, S. CRAIG, S.F.; BISHOP, J.D.D. 2004. Kin or self-recognition? Colonial fusibility of the bryozoan *Celleporella hyalina*. **Evol. & Development** **6**: 431-437.
- KARLSON, R.H. 1988. Size-dependent growth in two zoanthid species: a contrast in clonal strategies. **Ecology**: **69**: 1219-1232.
- KEOUGH, M. J. 1984. Kin-recognition and the spatial distribution of larvae of the bryozoan *Bugula neritina* (L.). **Evolution** **38**: 142-147.

- KIM, K. & LASKER, H. 1998. Allometry of resource capture in colonial cnidarians and constraints on modular growth. *Funct. Ecol.* **12**: 646-654.
- KOWALEVSKI, A. 1874. *Ueber die Knospung der Ascidien*. *Arch. Mikr. Anat.* **10**: 441-470.
- LASKER, H.R. 1990. Clonal propagation and population dynamics of a gorgonian coral. *Ecology* **71** (4): 1578-1589.
- LINACRE, N.A. & KEOUGH, M.J. 2003. Demographic effects of fragmentation history in modular organisms: illustrated using the bryozoan *Mucropetraliella elleri* (MacGillivray). *Ecol. Modelling*. **170**: 61-71.
- LLODRA, E.R. 2002. Fecundity and life-history strategies in marine invertebrates. *Adv. Mar. Biol.* **43**. 170 pp.
- LOTUFO, T. M. C., 2002. Ascidiacea (Chordata: Tunicata) do litoral tropical brasileiro. *Tese de Doutorado*, Depto Zoologia, Universidade de São Paulo, 183 pp.
- MALDONADO, M. & URIZ, M.J. 1999. An experimental approach to the ecological significance of microhabitat-scale movement in an encrusting sponge. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* **185**: 239-255.
- McFADEN, C.S. 1986. Colony fission increases particle capture rates of a soft coral: advantages of being a small colony. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* **102**: 1-20.
- MILLAR, R.H. 1958. The breeding season of some littoral ascidians in Scottish waters. *J. Mar. Biol. Ass. U.K.* **37**: 649-652.
- MILLAR, R.H. 1971. The biology of ascidians. *Adv. Mar. Biol.* **9**: 1-100.
- MILLAR, R.H. 1974. A note on the breeding season of three ascidians on coral reefs at Galeta in the Caribbean Sea. *Mar. Biol.* **28**: 127-129.
- NAKAUCHI, M. 1982. Asexual development of ascidians: Its biological significance, diversity, and morphogenesis. *Amer. Zool.* **22**:753-763.
- OKA, H. & USUI, M. 1944. On the growth and propagation of the colonies in *Polycitor mutabilis* (Ascidiae Compositae). *Science Reports: Tokyo Bunrika Daigaku, Series b* **7**: 23-53.
- PINEDA-KRCH, M. & POORE, A.G.B. 2004. Spatial interactions within modular organisms: genetic heterogeneity and organism fitness. *Theor. Pop. Biol.* **66**: 25-36.
- REUSS-STRENZEL, G.M.1997. Aproximação inicial às unidades ambientais submersas na área da Reserva Biológica Marinha do Arvoredo (Santa Catarina, Brasil). In: Semana

- Nacional de Oceanografia, 1997b, Itajaí. *Anais da Semana Nacional de Oceanografia. Itajaí, SC: FACIMAR.*
- RINKEWICH, B.; SHLEMBERG, Z.; LILKER-LEVAV, M.; GOREN, M.; FISHELSON, L. 1993. Life history characteristics of *Botrylloides* (Tunicata) populations in Akko Bay, Mediterranean Coast of Israel. *Israel J. Zool.* **39**: 197-212.
- RINKEWICH, B.; SHLEMBERG, Z.; FISHELSON, L. 1995. Whole-body protochordate regeneration from totipotent blood cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **92**: 7695-7699.
- RODRIGUES, S.A.; ROCHA, R.M.; LOTUFO, T.M.C., 1998. *Guia Ilustrado para identificação das Ascídias do Estado de São Paulo*. IBUSP/FAPESP.
- RYLAND, J.S.; WIGLEY, R.A.; MUIHEAD, A. 1984. Ecology and colonial dynamics of some Pacific reef flat Didemnidae (Ascidacea). *Zool. J. Lin. Soc.* **80**: 261-182.
- SCHMITT, J. & ANTONOVICS, J. 1986. Experimental studies of the evolutionary significance of sexual reproduction. IV. Effect of neighbor relatedness and aphid infestation on seeding performance. *Evolution* **40**: 830-836.
- SMITH, L.D. & HUGHES, T.P. 1998. An experimental assessment of survival, re-attachment and fecundity of coral fragments. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* **235**: 147-164.
- STAUFFER, D. 1999. Why care about sex? Some Monte Carlo justification. *Stat. Mech. Applic.* **273**: 132-139.
- STONER, D.S. 1986. The role of fragmentation in the colonial, algal-bearing didemnid ascidian, *Diplosoma similes*. Pages 240-262 in P.L. Jokiel, R.H. Richmond and R.A. Rogers, eds. Coral reef population biology. *Hawaii Inst. Mar. Biol. Tech. Rep. No. 37*.
- STONER, D.S. 1989. Fragmentation: a mechanism for the stimulation of the genet growth rates in an encrusting colonial ascidian. *Bull. Mar. Sci.* **45**: 277-287.
- STONER, D.S. 1994. Larvae of a colonial ascidian use a non-contact mode of substratum selection on a coral reef. *Mar. Biol.* **121**: 319-326.
- TURON, X. 1992. Periods of non-feeding in *Polysyncraton lacazei* (Ascidacea: Didemnidae): a rejuvenative process? *Mar. Biol.* **112**: 647-655.
- TURON, X.; BECERRO, M.A. 1992. Growth and survival of several ascidian species from the northwestern Mediterranean. *Mar. Ecol. Progr. Ser.* **82**: 235-247.
- UNDERWOOD, A.J. & FAIRWEATHER, P.G. 1991. Supply-side ecology and benthic marine assemblages. *Tr. Ecol. Evol.* **4**: 16-20.

- WALTERS, L.J.; SMITH, C.M.; COYER, J.A.; HUNTER, C.L. 2002. Asexual propagation in the coral reef macroalga *Halimeda* (Chlorophyta, Bryopsidales): production, dispersal and attachment of small fragments. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* **278**: 47-65.
- WULF, J.L., 1991. Asexual fragmentation, genotype success, and population dynamics of erect branching sponges. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* **149**: 227-247.

Capítulo II

Plasticidade fenotípica na reprodução de *Didemnum rodriguesi* (Aplousobranchia, Didemnidae)

1. Introdução

O Saco do Vital, na Ilha do Arvoredo, SC possui formações rochosas de grandes dimensões que vão desde a superfície até o fundo arenoso a 10 m de profundidade aproximadamente. Uma destas formações em especial, forma um grande salão submerso que bloqueia a entrada de luz diretamente e fornece uma condição atípica onde, naturalmente, o ambiente possui condições de grande redução de luminosidade. As colônias de *Didemnum rodriguesi* ali presentes, aparentemente, são maiores e menos numerosas do que as de uma situação de luminosidade normal. Este fenômeno poderia ser decorrente do investimento diferenciado em reprodução sexuada e assexuada, resultante de pressões seletivas diferentes em cada microhabitat.

Sabe-se que o meio ambiente exerce um papel importante na determinação do fenótipo dos animais. Os organismos adaptam-se às variações ambientais por uma variedade de mecanismos: quando estes experimentam mudanças ambientais constantes, um fenótipo com alto valor adaptativo para uma situação pode estar pouco adaptado a uma outra condição. Em meios que sofrem constantes mudanças, a evolução pode favorecer genótipos capazes de expressar diferentes fenótipos em resposta a ambientes distintos. A plasticidade fenotípica é a capacidade de um genótipo de produzir diferentes fenótipos em resposta a diferentes ambientes e é um importante mecanismo de adaptação pelo qual as populações tornam-se capazes de adaptar-se (sobreviver) a variações estocásticas freqüentes (Bradshaw, 1965). Enquanto a plasticidade fenotípica ocorre nos indivíduos, a capacidade de sofrer uma resposta plástica geralmente tem uma base genética (Bruno & Edmunds, 1997; Newman, 1994), que varia em freqüência entre as populações (Sultan, 1987). Algumas pesquisas indicam que a plasticidade fenotípica pode prevalecer nos aspectos reprodutivos de animais com ciclos de vida curtos e que habitam ambientes dinâmicos (Bradshaw, 1965). Outros trabalhos já demonstraram plasticidade de respostas em caracteres reprodutivos como reprodução assexuada e investimento

diferenciado em estruturas masculinas e femininas (Newlon *et al.*, 2003). Por exemplo, a reprodução assexuada aumenta com um aumento da qualidade de nutrientes (Cheplick, 1995) e para Llodra (2002), a fecundidade é um caráter altamente plástico dentro dos limites definidos pela bioenergética e estratégias de vida de um organismo. A produção de ovos é afetada por fatores ambientais como quantidade e qualidade de alimentos, temperatura ou a presença de elementos tóxicos no habitat. As diferenças na fecundidade encontradas entre espécies aparentadas em diferentes localidades biogeográficas refletem, pelo menos em parte, as diferentes condições ambientais de seus habitats.

Alguns artigos reportam a importância da luz em alguns aspectos da reprodução. Como exemplo, os resultados obtidos por Ohkuma *et al.* (2000) para a ascídia *Halocynthia roretzi* sugerem que a luz regule um relógio biológico para a reprodução devido a uma proteína fotorreceptora, que seria a responsável pela ativação da atividade gonadal por intermédio do hormônio liberador de gonatropina (GnRH). Outros trabalhos reportam que a liberação de larvas de ascídias ocorre depois de períodos de latência fixos após o pôr do sol na fase reprodutiva (Svane & Young, 1989; West & Lambert, 1976). A fototaxia (positiva ou negativa) é um dos principais recursos utilizados pelas larvas para orientar-se e escolher locais para a fixação e as taxas de recrutamento afetam profundamente a dinâmica e estrutura de comunidades marinhas bentônicas (Underwood & Fairweather, 1989).

Na década de 80, os trabalhos sobre dinâmica populacional de invertebrados marinhos focaram apenas animais com estruturas populacionais abertas e larvas com estágios dispersivos longos (Roughgarden *et al.*, 1985, 1988; Underwood & Fairweather, 1991). Porém, há um reconhecimento crescente sobre a existência de populações com assentamentos de larvas vindas de locais adjacentes (Sammarco & Andrews, 1988; Yund & Stires, 2002). Em casos extremos, as larvas podem sofrer tão pouca dispersão, que a população se torna fechada com dinâmicas controladas por processos locais. Nos animais com estágios dispersivos curtos, as populações ou sub-populações distribuídas ao longo de gradientes ambientais podem potencialmente experimentar condições ambientais bastante distintas em distâncias relativamente curtas. Por causa de uma situação de fluxo gênico limitado, uma substancial atenção foi dada para o potencial de diferenciação genética (Yund & Stires, 2002; Janson & Ward, 1984; Duffy, 1993; Brazeau & Harvell,

1994) e adaptações às condições locais (Etter, 1989; Yund, 1991; Hughes, 1995). Todavia, as consequências das condições ambientais locais na dinâmica de populações fechadas recebeu consideravelmente menor atenção quando comparadas a populações abertas (Yund & Stires, 2002).

O objetivo deste trabalho foi comparar duas situações ambientais diferentes em relação à luminosidade e verificar se há uma diferença no investimento em reprodução sexuada e assexuada para cada tratamento. Ou seja, verificar se existe plasticidade fenotípica relacionada aos tipos de reprodução. Os tratamentos testados foram: condição de luminosidade normal (“claro”) e uma grande redução de luminosidade (“escuro”) que ocorre devido à formação rochosa do infralitoral.

2. Material e Métodos:

Os métodos utilizados foram semelhantes aos relatados no capítulo anterior.

A diferença na metodologia neste capítulo é que as coletas e fotografias foram feitas em dois locais distintos, com o intuito de compará-los.

Todos os resultados das coletas e fotografias descritas no capítulo anterior foram utilizadas neste capítulo como dados referentes à situação de luminosidade normalmente encontrada no infralitoral, denominada neste capítulo de **claro**. A outra situação, com grande redução de luminosidade foi denominada **escuro**, mas este nome não significa que o local é totalmente escuro, e será melhor explicado a seguir. É importante salientar que as denotações **claro** e **escuro** foram usadas para facilitar a escrita do trabalho e, com isto, evitar a utilização excessiva dos termos: local com luminosidade normal (**claro**) e local com redução de luminosidade (**escuro**).

2.1 Descrição do local com redução de luminosidade (*escuro*)

O local escuro ocorre porque há grandes rochas submersas que se encontram em suas extremidades e bloqueiam a entrada direta da luz. A disposição destas rochas, no entanto permite que mergulhadores entrem, pelo fundo arenoso no grande “salão submerso” formado. O esquema abaixo (Fig. 1) procura ilustrar, de forma bastante simplificada esta situação:

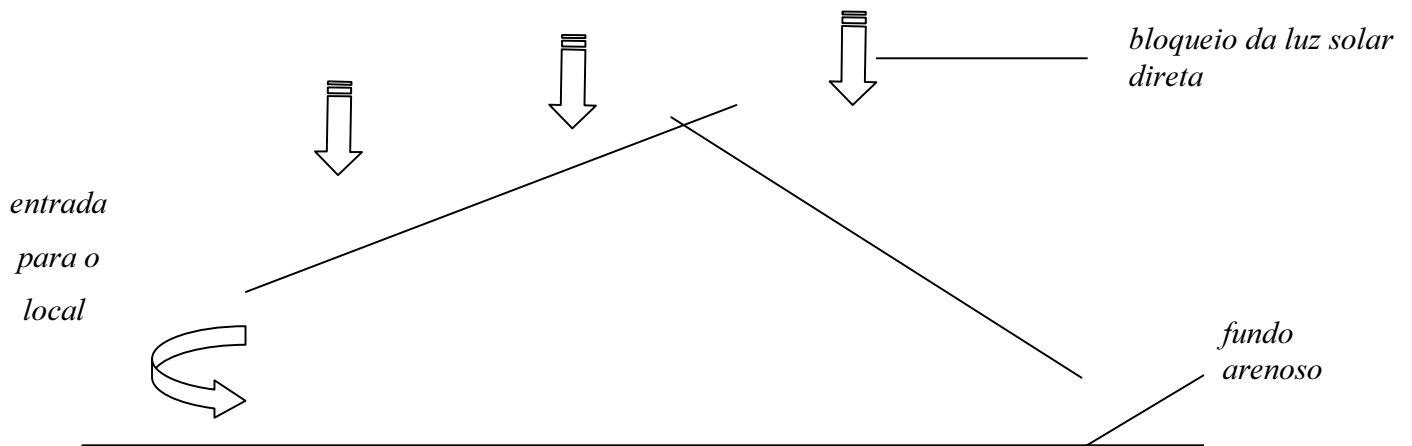


Fig. 1: Esquema simplificado do local “escuro” a ser estudado.

Não há a ausência completa de luz, mas uma visível redução, que pode ser constatada pela ausência de algas (Fig. 2). Segundo Paulo Horta (com. pessoal, 2003), algumas algas presentes no substrato com iluminação normal são: *Lobophora variegatta*, *Peyssonellia spp*, *Rodimenia pseudopalmata*, *Sargassum spp.*, *Dictyota humifusa*, *Amphiroa beauvoasi*, *Gelidiopsis variabilis*, *Jania spp.*, uma espécie do gênero *Litophylum* e de *Ectocarpacea*.

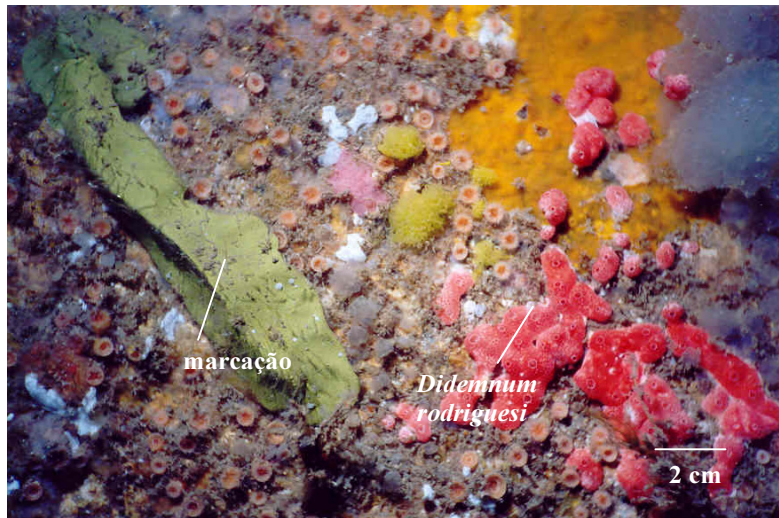


Fig. 2: Fotografia com a lente macro de um agregado no escuro.

2.2 Visão geral do experimento

Este capítulo pretende quantificar e comparar aspectos da reprodução sexuada, assexuada e alguns outros aspectos ecológicos (como mortalidade, n° de fusões e taxas de ocupação do substrato) em duas situações ambientais diferentes. Da mesma forma como no capítulo anterior, os dados aqui também foram obtidos por coletas mensais de colônias e fotografias dos locais marcados (as datas das coletas e fotografias estão no capítulo 1). Os dados do capítulo anterior foram obtidos em situação de luminosidade normal, isto é, compreendem o tratamento *claro* deste experimento. Estes dados foram comparados aos obtidos na situação de *escuro* e serão expostos a seguir.

A distância entre os dois locais comparados é de aproximadamente 20 m e a profundidade das colônias estudadas entre 5 e 8 m. Desta forma, procurou-se atenuar qualquer outro tipo de efeito ambiental (correntes, temperatura, salinidade entre outros) entre as situações testadas.

2.3 Análise dos dados

Os resultados obtidos pelas fotografias foram ajustados para que pudessem ser comparados. Da mesma forma como anteriormente, devido ao fato de no verão as fotografias terem sido mais frequentes do que no inverno e o intervalo entre as mesmas ter sido diferente, os resultados obtidos foram divididos pelo número de dias transcorridos entre as observações. Algumas transformações de dados também foram necessárias para a obtenção de dados normais. Utilizou-se o logaritmo da maior parte das variáveis. Em alguns casos, devido à ocorrência de zeros, foi adicionado o valor 1 e depois feito o log do novo valor. Depois de ajustados, os valores foram comparados por ANOVA, Teste- t e testes não-paramétricos (Kruskall-Wallis) para verificar a existência de diferenças entre claro e escuro e, em alguns casos, a interação destes dados com as estações do ano: verão e inverno. A análise que foi feita para cada variável será descrita nos resultados.

3. Resultados:

3.1 Resumo dos resultados

Todos os resultados que serão apresentados a seguir estão resumidos na tabela abaixo

Tab. 1: Resumo de todas as comparações das variáveis estudadas entre claro e escuro. > significativamente maior; < significativamente menor e NS diferença não significativa.

	claro	escuro
Reprodução sexuada		
n° de ovos	>	<
n° de larvas	NS	NS
recrutamentos	>	<

Reprodução assexuada		
Taxa de crescimento positivo	<	>
Taxa de crescimento negativo	NS	NS
Frequência de ocorrência de cresc. + ou -	NS	NS
Área das colônias	<	>
Nº de divisões de colônias (fragmentação)	NS	NS
Outros processos		
Mortalidade	>	<
Nº de fusões de colônias	NS	NS

3.2 Reprodução sexuada

3.2.1 Número de ovos incubados nas colônias nos tratamentos (claro/escuro):

Foi realizado um teste não-paramétrico porque os dados não possuíam variâncias homogêneas. Os dados utilizados no teste foram apenas os dos meses em que a ocorrência de ovos foi observada (novembro 2003 a maio 2004). Primeiramente, tentou-se usar destes dados segundo a fórmula $\log(n^\circ \text{ ovos} + 1)$, mas mesmo desta forma, as variâncias não eram homogêneas. Fez-se então, o teste Kruskal-Wallis com o valor do número de ovos por colônia no claro e escuro e os resultados indicam que as colônias do claro possuíram um número maior de ovos em relação às do escuro ($\Pi^2 = 4,31$ e $p=0,0378$; n claro: 60; n escuro: 60)(Fig. 3).

No escuro, mediana do número de ovos por colônia é 0; min:0; máx: 58; 25-75%: 0-2 e estes dados mostram o quão heterogêneos são os dados. No claro, os valores obtidos foram: mediana: 1; min: 0; max: 98; 25-75%: 0-4 ovos por colônia.

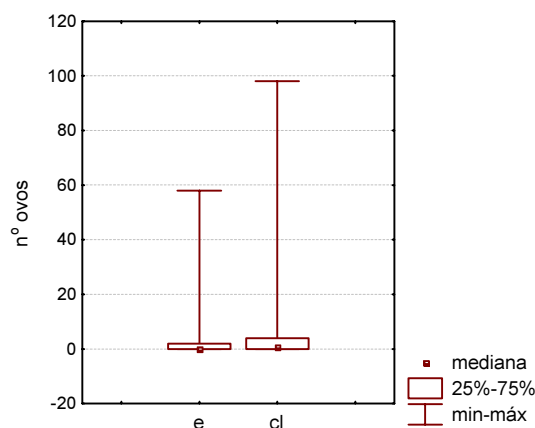


Fig. 3: Distribuição do número de ovos por colônia de *Didemnum rodriguesi*. e= escuro; cl = claro.

3.2.2 Número de larvas:

Da mesma forma como o nº de ovos, a análise referente ao nº de larvas utilizou o teste Kruskal-Wallis (variâncias não-homogêneas) e verificou-se que não houve diferenças entre os tratamentos ($\Pi^2 = 0,122$ e $p = 0,7267$; Fig. 4). A mediana do número de larvas por colônia no escuro foi: 0; min: 0; máx: 22; 25-75%: 0-1. No escuro foi: mediana: 0; min: 0; max: 43 e 25-75%: 0-2.

O fato de o nº de ovos ser diferente no claro e escuro, mas não o nº de larvas pode ser decorrente das coletas das colônias terem sido feitas justamente após a liberação das larvas.

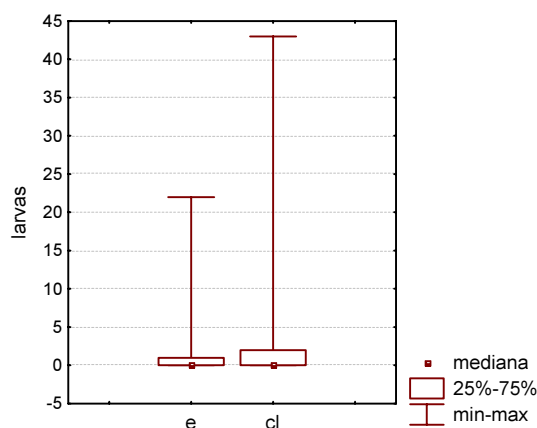


Fig. 4. Número de larvas por colônia de *Didemnum rodriguesi*. e= escuro; cl=claro.

3.2.3 Recrutamento:

O número de recrutamentos foi contado em cada uma das áreas de $12 \times 18\text{cm}^2$ fotografadas. Os valores foram transformados em log (número de recrutamentos +1) e o teste utilizado foi a ANOVA de efeitos principais entre a estação do ano e luminosidade, pois não houve interação entre estas variáveis. O maior número de recrutamentos foi observado na situação de claro (Fig. 5 e 6, Tab 1). Os gráficos abaixo não estão com a mesma escala devido às grandes diferenças entre o número de recrutamentos no verão e inverno.

Tab. 2: Análise de variância dos efeitos da luminosidade e estação do ano sobre o número de recrutamentos. A interação entre os fatores não foi significativa.

Fonte de variação	Soma dos quadrados	g.l.	F	p
luminosidade	0,8322	1	10,3442	0,0028
estação	6,7136	1	6,7136	<0,0001
erro	2,7354	34	0,0804	

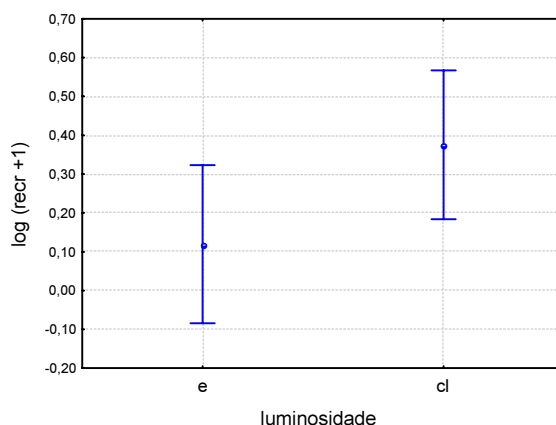


Fig. 5. Número de recrutamentos por área de $12 \times 18\text{cm}^2$ no **inverno**. O ponto é a média e a barra vertical indica o intervalo de confiança de 95%. e= escuro; cl = claro.

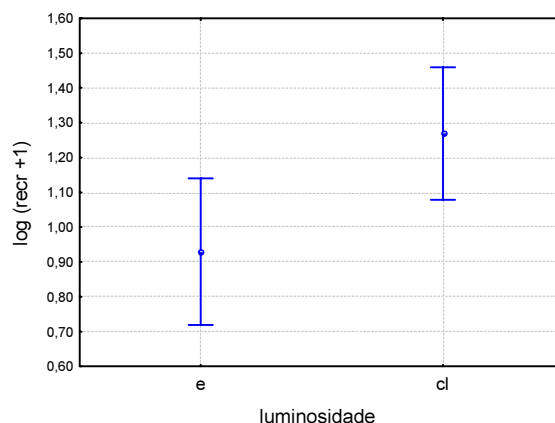


Fig. 6: Número de recrutamentos por área de $12 \times 18\text{cm}^2$ no **verão**. O ponto é a média e a barra vertical indica o intervalo de confiança de 95%. e= escuro; cl = claro.

3.3 Reprodução assexuada

3.3.1 Taxa de crescimento:

Durante o decorrer do experimento verificou-se que as colônias aumentavam de tamanho (crescimento positivo), porém a diminuição de tamanho também foi observada (crescimento negativo), apesar de ter sido um fenômeno menos comum. Para a análise foi utilizado o valor do log da taxa de crescimento. No entanto, para evitar que as taxas negativas fossem descartadas da análise, trabalhou-se com as taxas separadamente, e os valores negativos foram utilizados com o seu módulo. Apenas as taxas de crescimento positivo foram maiores no escuro ($t = -2,0133$ e $p = 0,04641$; Fig. 7). A média de crescimento para o tratamento **claro** foi de $2,14 \text{ mm}^2/\text{dia}$ (erro padrão = $0,71$; $n = 62$) e **escuro**, média = $4,29 \text{ mm}^2/\text{dia}$ (erro padrão = $0,75$ e $n = 55$) (Fig. 6). A taxa de crescimento negativo não mostrou uma diferença significativa entre claro e escuro ($t = 0,4930$ e $p = 0,6245$; Fig. 8). A média da taxa de crescimento por dia para as colônias que obtiveram este tipo de crescimento no claro foi $-3,08 \text{ mm}^2$ (erro padrão = $0,72$; $n = 19$) e para o escuro, média: $-2,31 \text{ mm}^2$ (erro padrão = $0,62$ e $n = 26$).

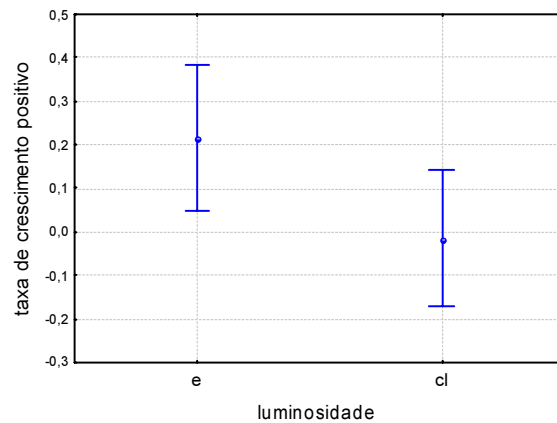


Fig. 7: Logaritmo das taxas de crescimento positivo (mm²/dia) no escuro (e) e claro (cl). O ponto é a média e a barra vertical indica o intervalo de confiança de 95%.

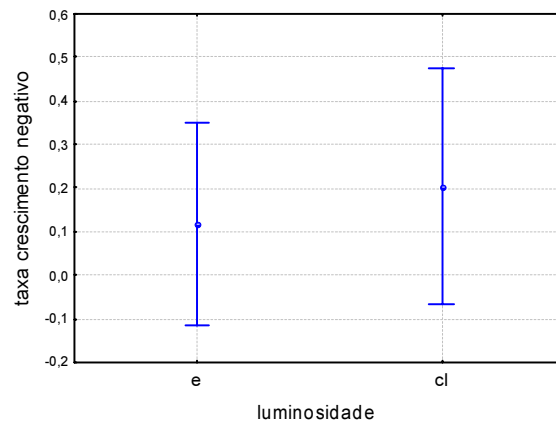


Fig. 8: Logaritmo das taxas de crescimento negativo das colônias (em módulo) no escuro (e) e claro (cl). O ponto é a média e a barra vertical indica o intervalo de confiança de 95%.

3.3.2 Tipo de crescimento:

Foi feito um teste qui-quadrado para avaliar se o tipo de crescimento: positivo/negativo ocorre em maior frequência no claro ou escuro. Verificou-se que em ambas as situações os dois tipos são encontrados em igual proporção, pois o teste não apresentou significância ($\Pi^2 = 0,933$ e $p = 0,3340$; Tab. 2).

Tab. 3: Número de eventos de crescimento positivo e negativo das colônias de *Didemnum rodriguesi*.

	crescimento negativo	crescimento positivo	total
Claro	21	61	82
Escuro	26	54	80
Total	47	115	162

3.3.3 A área das colônias:

Para esta análise, utilizou-se a medida da área de todas as colônias presentes em 5 fotografias no claro e escuro. Esta variável também não possuiu variâncias homogêneas e novamente o teste Kruskal-Wallis foi realizado, utilizando-se a área da colônia (tamanho) como variável nos tratamentos claro e escuro, em cada estação separadamente. A diferença observada nos tamanhos das colônias é significativa, sendo que o claro, tanto no inverno como no verão apresentou os menores tamanhos ($\Pi^2 = 157,6745$ e $p < 0,0001$) (Tab 4, Fig. 9). A diferença no número amostral ocorreu porque no claro as colônias eram muito mais numerosas e de tamanho menor do que no escuro.

Tab. 4: Tamanho das colônias de *Didemnum rodriguesi* em diferentes situações ambientais

	Inverno		Verão	
	claro	escuro	claro	Escuro
N	140	96	306	129
Mediana (mm ²)	52,7	112,5	13,9	29,7
Máximo (mm ²)	1199,8	1569,3	791,9	715,9
Mínimo (mm ²)	3,6	4,0	1,2	3,1
25-75%(mm ²)	25,6 – 109,2	55,0-283,5	7,8 – 28,9	15,7 - 68,4

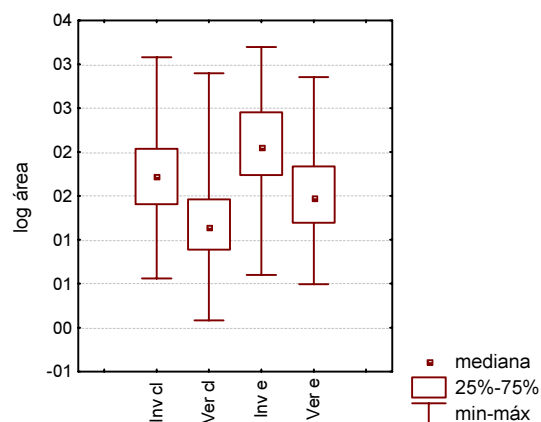


Fig. 9: Tamanho (mm^2) das colônias de *Didemnum rodriguezi* nos tratamentos. Inv cl = inverno e claro; ver cl = verão e claro; inv e = inverno e escuro e ver e = verão e escuro.

3.3.4 Eventos de divisão:

Esta análise utilizou o número de divisões observado nas fotos dividido pelo número de dias no intervalos entre duas fotos seguidas e realizou-se um teste *t*. A média do número de divisões por dia no claro não foi significativamente diferente do escuro ($t = 0,7490$ e $p = 0,4563$; n claro = 39 e n escuro = 34). Porém, a tendência é haver um maior número de divisões no escuro. A média de eventos de divisões foi de 0,16 divisões ao dia (dp 0,21) no escuro e 0,12 divisões ao dia (dp 0,20) no claro.

3.4 Outros processos

3.4.1 Mortalidade:

A taxa de mortalidade foi calculada contando o número de mortes nas fotografias e dividindo-se este valor pelo número total de colônias presentes na foto e o número de dias transcorridos entre as observações. A variância dos dados não foi homogênea e a análise foi realizada com o teste não-paramétrico (Kruskall-Wallis). O número de mortes foi maior no claro do que no escuro ($\Pi^2 = 20,37$ e $p < 0,0001$; n claro=62 e n escuro=52; Tab. 5; Fig. 10).

Tab. 5: Mortalidade das colônias de *Didemnum rodriguesi* em diferentes situações ambientais

	Inverno		Verão	
	claro	escuro	claro	Escuro
N	18	16	44	36
Mediana (mm ²)	0,0038	0,0	0,0069	0,0
Máximo (mm ²)	0,0196	0,0178	0,0345	0,028
Mínimo (mm ²)	0,0	0,0	0,0	0,0
25-75%(mm ²)	0-0,0068	0 – 0	0,001- 0,0147	0- 0,0032

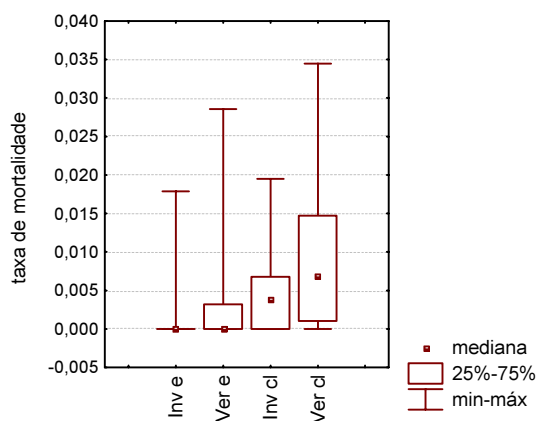


Fig. 10: Taxa de mortalidade de *Didemnum rodriguesi* por tratamento. .Inv cl = inverno e claro; ver cl = verão e claro; inv e = inverno e escuro e ver e = verão e escuro.

3.4.2 Eventos de fusão:

O número de eventos de fusão por dia não apresentou diferença significativa entre os ambientes estudados ($t = -0,5116$ e $p = 0,6106$; n claro: 34 e escuro 38). A média de eventos de fusão ao dia foi de 0,09 (dp 0,11) no escuro e 0,11 (dp 0,14) para o claro.

4. Discussão

Os resultados indicam que há alguns aspectos da dinâmica populacional de *Didemnum rodriguesi* referentes tanto à reprodução sexuada como assexuada que sofrem algum tipo de plasticidade fenotípica. Muitos dos resultados são complementares e reforçam a diferença entre os ambientes. Como exemplo, verificou-se um maior recrutamento na situação de claro (Fig. 5 e 6), possivelmente devido a uma maior produção de ovos neste tratamento (Fig. 3). O número de larvas incubadas não apresentou diferenças estatísticas entre os tratamentos com o teste Kruskal-Wallis (Fig. 4). Convém ressaltar, todavia, que este resultado provém de coletas de colônias e, que em alguns casos as larvas podem ter sido liberadas um pouco antes da coleta da colônia, fato este que pode ter interferido nos resultados finais. Neste caso, o número de ovos encontrados na colônia reflete melhor a realidade da reprodução sexuada, que no experimento mostrou-se maior na situação de claro. Estes resultados, de certa forma, corroboram com alguns trabalhos que mostram uma plasticidade de aspectos reprodutivos em diferentes espécies, principalmente na produção de gametas femininos. Por exemplo, estudos com algumas plantas demonstram uma baixa variabilidade na plasticidade de produção de estruturas masculinas (número e tamanho de grãos de pólen) quando comparadas às femininas (Vogler *et al.*, 1999). O mesmo padrão foi observado para a ascídia *Botryllus schlosseri* (Yund *et al.*, 1997).

Quanto à reprodução assexuada, também já foram observadas variações na formação de zoóides como resultado de uma plasticidade fenotípica (Newlon *et al.*, 2003). Estes autores verificaram que para *Botryllus schlosseri* uma maior produção de zoóides pode aumentar a quantidade de estruturas reprodutivas (principalmente femininas), levando a uma maior porcentagem de ovos dentro da colônia.

As diferenças entre os dois tratamentos exibida por *D. rodriguesi* relacionadas às taxas de crescimento positivas (Fig. 7) e tamanhos das colônias (Fig. 9) podem refletir uma adaptação a cada tipo de ambiente. Enquanto as colônias do escuro investem uma maior energia em biomassa e crescimento (estratégia k), as do claro investem mais em reprodução sexuada (estratégia r). O número de mortes na situação claro é também significativamente maior do que no escuro (Fig. 10) e o maior recrutamento naquela

condição (Fig. 5 e 6) seria importante para compensar as baixas taxas de crescimento e alta mortalidade. O maior número de mortes na situação de claro indica um desfavorecimento à sobrevivência dos adultos, e o maior investimento na reprodução sexuada pode ser uma estratégia para recuperar o número de colônias perdidas.

Quanto às divisões, não há diferenças entre o claro e escuro. Se este fenômeno fosse importante para a colonização da área ocupada (Bak *et al.*, 1981), esperar-se-ia que as divisões no claro ocorressem mais freqüentemente, já que o espaço é mais ocupado e limitado nesta situação (observação pessoal) e também para contrabalançar a alta mortalidade. Provavelmente divisões das colônias são tão freqüentes, que não sofrem diferenças entre localidades. Para a ascídia colonial *Podoclavella moluccensis*, os eventos de fusão e fissão não são atributos significantes para o ciclo de vida: as divisões resultaram em colônias pequenas e com sobrevivência curta e o assentamento larval é mais importante na determinação da distribuição e abundância da espécie (Davis & Butler, 1989). Os resultados obtidos com *D. rodriguesi* indicam que os recrutamentos também têm importância na abundância e distribuição da espécie.

As diferenças encontradas em alguns aspectos reprodutivos de *D. rodriguesi* podem ou não estar diretamente ligadas ao fator ambiental luz, pois foram também identificados outros fatores diferenciando os dois tratamentos testados. Os estudos realizados no campo não têm como separar interações biológicas e algumas variações pequenas entre localidades diferentes podem ter algum efeito importante no resultado final da variável a ser testada. No experimento apresentado neste capítulo, a diminuição da competição interespecífica pode ter atuado como um fator indireto ligado à redução da luz e causado as diferenças observadas. Como já foi descrito, na situação de escuro há uma ausência de algas, o substrato encontra-se menos ocupado por outros competidores e as colônias de *Didemnum rodriguesi* têm mais espaço livre (Fig.2). É possível que uma diminuição na competição por interferência seja o fator responsável por um crescimento mais acelerado das colônias nesta condição, mas não atua no número de divisões já que este número é semelhante nos dois tratamentos. Assim, o tamanho das colônias no escuro acaba sendo maior do que no claro. Outro fenômeno observado em campo é que no escuro as colônias mantêm-se mais próximas umas das outras do que as do claro, que são menores e mais espalhadas pelo substrato.

Uma outra variante presente na situação de luminosidade normal e ausente na situação de escuro, que pode ter influenciado algumas das diferenças detectadas neste trabalho, foi a presença de potenciais predadores da espécie em questão, a estrela-do-mar *Echinaster brasiliensis* e o peixe marimba da família Sparidae, *Diplodus argenteus argenteus* (Valenciennes, 1830). Esta observação poderia ser a causa do número de mortes significativamente maior no claro (Fig. 10). Todavia, experimentos específicos (por exemplo, gaiolas de exclusão ou remoção de competidores interespecíficos do substrato) seriam necessários para comprovar se, de fato, algum desses organismos age sobre a taxa de crescimento e produção de ovos da espécie estudada.

Outros estudos demonstraram diferenças na dinâmica de populações de ascídias coloniais em diferentes localidades. Alguns autores, que serão citados a seguir, acreditam que algumas espécies de ascídias possuam uma dispersão larval pouco eficiente, que pode levar à formação de populações fechadas e com diferenças genéticas entre elas.

Yund & Stires (2002) verificaram com *Botryllus schlosseri* evidências que sugerem que diferentes locais tenham populações fechadas, ou pelo menos populações discretas, com conexões mínimas via transporte larval devido a uma dispersão mais restrita das larvas. Ayre *et al.* (1997), em um estudo para determinar as consequências genéticas da reprodução e dispersão de algumas espécies de ascídias coloniais e solitárias, detectaram que a espécie colonial *Botrylloides magnicoecum* apresenta deficiências significativas de heterozigose, o que seria a consequência de uma população com pouca dispersão de gametas e larvas, que estaria presente nas ascídias coloniais. Estes resultados corroboram com o trabalho de Grosberg (1987) com *Botryllus schlosseri* que verificou que tanto os gametas masculinos como larvas não dispersam mais do que 2 m. Há ainda outros autores (Olson, 1985; Davis & Butler, 1989; Hurlbut, 1991; Bingham & Young, 1991) que verificaram que para as ascídias coloniais que incubam as larvas, as distâncias de dispersão são curtas (alguns poucos metros) e o assentamento ocorre perto das colônias parentais.

Apesar das evidências citadas acima sugerirem que as população de ascídias coloniais sejam fechadas e com pouca dispersão larval, a distância de aproximadamente 20 m entre os dois tratamentos testados aqui e a grande circulação de água presente não devem permitir que isto ocorra, pelo menos no local em que o experimento foi realizado.

As populações fechadas a que os autores referem-se foram encontradas em situações especiais, muitas vezes em laboratório ou em locais com pouca circulação de água, ou distantes entre si.

O estudo genético das populações seria interessante para verificar se, além da plasticidade fenotípica, existe uma diferenciação genética entre as populações, que comprovaria a existência de populações fechadas também neste caso. Um experimento apropriado para ajudar a elucidar a questão plasticidade fenotípica *versus* diferenciação genotípica, seria o transplante recíproco de colônias entre tratamentos. As respostas obtidas com um experimento como este indicariam quão plásticas são as variáveis estudadas e quais delas já apresentam base genética.

5. Referências bibliográficas

- AYRE, D.J.; DAVIS, A.R.; BILLINGHAM, M.; LLORE N.S.T.; STYAN, C. 1997. Genetic evidence for contrasting patterns of dispersal in solitary and colonial ascidians. *Mar. Biol.* **130**: 51-61.
- BAK, R.P.M., SYBESMA, J.; DUYL, F.C. 1981. The ecology of the tropical compound ascidian *Trididemnum solidum*. II. Abundance, Growth and Survival. *Mar. Ecol Prog Ser.* **6**: 43-52.
- BINGHAM, B. L. & YOUNG, C.M. 1991. Larval behavior of the ascidian *Ecteinascidia turbinata* Herdman; an *in situ* experimental study of the effects of swimming on dispersal. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* **145**: 189-204.
- BRADSHAW, A.D. 1965. Evolutionary significance of phenotypic plasticity in plants. *Adv. Gen.* **13**: 115-155.
- BRAZEAU, D.A. & HARVELL, C.D. 1994. Genetic structure of local populations and divergence between growth forms in a colonial invertebrate, the Caribbean octocoral *Briarium asbestimum*. *Mar. Biol.* **119**: 53-60.
- BRUNO J.F & EDMUNDS, P.J. 1997. Clonal variation for phenotypic plasticity in the coral *Madracis mirabilis*. *Ecology* **78**: 2177-2190.
- CHEPLICK, G.P. 1995. Genotypic variation and plasticity of clonal growth in relation to nutrient availability in *Amphibromus scabrivalvis*. *J. Ecol.* **83**: 459-468.
- DAVIS, A.R. & BUTLER, A.J. 1989. Direct observations of larval dispersal in the colonial ascidian *Podoclavella moluccensis* Sluiter: evidence for closed populations. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* **127**: 189-203.
- DUFFY, H. 1993. Genetic population structure in two tropical sponge-dwelling shrimps that differ in dispersal potential. *Mar. Biol.* **116**: 459-470.
- ETTER, R.J. 1989. Life history variation in the intertidal snail *Nucella lapillus* across a wave-exposure gradient. *Ecology* **70**: 1857-1876.
- GROSBERG, R.K. 1987. Limited dispersal and proximity dependent mating success in the colonial ascidian *Botryllus schlosseri*. *Evolution* **41**: 372-384.
- HUGHES, R.N. 1995. Resource allocation, demography and the radiation of life histories in rough periwinkles. *Hydrobiologia* **309**: 1-14.

- HURLBUT, C.J. 1991. The effects of larval abundance, settlement and juvenile mortality on the depth distribution of a colonial ascidian. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* **150**: 183-202.
- JANSON, K. & WARD, R.D. 1984. Microgeographic variation in alloenzyme and shell characteristics in *Littorina saxatilis* Olivi (Prosobranchia: Littorinidae). *Biol. J. Linn. Soc.* **22**: 289-307.
- LLODRA, E.R. 2002. Fecundity and life-history strategies in marine invertebrates. *Adv. Mar. Biol.* **43**. 170 pp.
- NEWLON, A.W.; YUND, P.O.; STEWARD-SAVAGE, J. 2003. Phenotypic plasticity of reproductive effort in a colonial ascidian, *Botryllus schlosseri*. *J. Exp. Zool.* **297A**: 180-188.
- NEWMAN, R.A. 1994. Genetic variation for phenotypic plasticity in the larval life history of spadefoot toads (*Scaphiopus couchii*). *Evolution* **48**: 1773-1785.
- OHKUMA, M.; KATAGIRI, Y.; NAKAGAWA, M.; TSUDA, M. 2000. Possible involvement of light regulated gonadotropin-releasing hormone neurons in biological clock for reproduction in the cerebral ganglion of the ascidian, *Halocynthia roretzi*. *Neur. Letters* **293**: 5-8.
- OLSON, R.R. 1985. The consequences of short-distance dispersal in a sessile marine invertebrate. *Ecology* **66**: 30-40.
- ROUGHGARDEN, J.; IWASA, Y.; BAXTER, O. 1985. Demographic theory for an open marine population with space-limited recruitment. *Ecology* **66**: 54-67
- ROUGHGARDEN, J.; GAINES, S.; POSSINGHAM, H. 1988. Recruitment dynamics in complex life cycles. *Science* **241**: 1460-1466.
- SVANE, I.B. & YOUNG, C.M. 1989. The ecology and behavior of ascidian larvae. *Oceanogr. Mar. Biol. Annu. Rev.* **27**: 45-90.
- SULTAN, S.E. 1987. Evolutionary implications of phenotypic plasticity in plants. *Evol. Biol.* **21**: 127-178.
- UNDERWOOD, A.J. & FAIRWEATHER, P.G. 1989. Supply-side ecology and benthic marine assemblages. *Tr. Ecol. Evol.* **4**: 16-20.
- VOGLER, D.W.; PERETZ, S.; STEPHENSON, A.G. 1999. Floral plasticity in an iteroparous plant: the interactive effects of genotype, environment, and ontogeny in *Campanula rapunculoides* (Campanulaceae). *Am. J. Bot.* **86**: 482-494.

- YUND, P.O. 1991. Natural selection on hydroid colony morphology by intraspecific competition. *Evolution* **45**: 1564-1573.
- YUND, P.O.; MARCUM, Y.; STEWART-SAVAGE, J. 1997. Life history variation in a colonial ascidian: broad-sense heritabilities and tradeoffs in allocation to asexual growth and male and female reproduction. *Biol. Bull.* **192**: 290-299.
- YUND, P.O. & STIRES, A. 2002. Spatial variation in population dynamics in a colonial ascidian (*Botryllus schlosseri*). *Mar. Biol.* **141**: 955-963.
- WEST, A.B. & LAMBERT, C.C. 1996. Control of spawning in the tunicate *Styela plicata* by variations in a natural light regime. *J. Exp. Zool.* **195**: 263-270.